

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD
LYON I

Année 1977

N° 538

LA CHROMATOGRAPHIE DES PORPHYRINES FÉCALES DANS LES PORPHYRIES

THÈSE

Présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I

et soutenue publiquement le 21 Novembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

GAY Claude

née le 27 Octobre 1951

à Le Coteau (Loire)



Année 1977

N° 538

LA CHROMATOGRAPHIE DES PORPHYRINES FÉCALES DANS LES PORPHYRIES

THÈSE

Présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I

et soutenue publiquement le 21 Novembre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

GAY Claude

née le 27 Octobre 1951

à Le Coteau (Loire)

EDITIONS A. G. E. L.

72, Rue Etienne-Richerand - 69003 LYON

1977

U N I V E R S I T E C L A U D E - B E R N A R D

=====

Président de l'Université - Professeur GERMAIN D.

Premier Vice-Président - Professeur ELBAZ E.

XXXXXX

Secrétaire Général - M. RAMBAUD J.

XXXXXX

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE ET LEUR DIRECTEUR.

ALEXIS CARREL - Professeur R. MORNEX

GRANGE-BLANCHE - Docteur SALLE B. (Maître de Conférences Agrégé)

LYON-NORD - Docteur NEIDHARDT J.P. (Maître de Conférences Agrégé)

SUD-OUEST - Professeur NORMAND J.

BIOLOGIE HUMAINE - DOCTEUR REVILLARD (Maître de Conférences Agrégé)

TECHNIQUES DE REAPDAPTATION - Docteur MORGON A. (Maître de Conférences Agrégé)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES - Professeur BIZOLLON C.A.

SCIENCES ODONTOLOGIQUES - Docteur VINCENT R.

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE - M. MILLON A.

MATHEMATIQUES - Professeur COMBET E.

PHYSIQUE - Professeur DELMAU J.

CHIMIE ET BIOCHIMIE - Professeur HUET J.

SCIENCES DE LA NATURE - Professeur GINET R.

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES - Mlle le Professeur WORBE Jeanne-Françoise

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE n° 1 - Professeur POUYET B.

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE n° 2 - Professeur GALLET - Directeur ENSAM

OBSERVATOIRE - M. MONNET Guy - Astronome Adjoint

PHYSIQUE NUCLEAIRE - Professeur GUSAKOW M.

U.E.R. DE MECANIQUE - Professeur COMTE-BELLIOT Geneviève.

RESPONSABLES D'ENSEIGNEMENT

de l'U.E.R. ALEXIS CARREL

1er Cycle -

Anatomie - M. le Professeur BOUCHET Alain

Biologie - M. le Professeur GIROD Christian

Chimie-Biochimie - M. le Professeur COLOBERT Louis

M. le Docteur NOFRE Claude, Maître de Conférences Agrégé

Histologie-Embryologie-Cytogénétique - M. le Professeur GIROD Christian

Mathématiques-Statistiques - M. le Professeur SITE Jean

Physiologie - M. le Docteur PELLET Michel, Maître de Conférences Agrégé

M. le Docteur SCHMITT Michel, Maître de Conférences Agrégé

Physique-Biophysique - M. le Professeur BERGER Michel

Psychologie-Médicale - M. le Professeur GUYOTAT Jean

Sciences Sociales et Economie Médicale - M. le Professeur ROCHE Louis

2ème Cycle -

Anatomie Pathologique - M. le Professeur TOMMASI Michel

M. le Docteur LOIRE Robert, Maître de Conférences
Agrégé

Bactériologie - M. le Professeur FLEURETTE Jean

Cardiologie - M. le Professeur FROMENT Roger

M. le Professeur GONIN André

Chirurgie Cardiaque - M. le Professeur MARET Gilbert

Chirurgie Digestive - M. le Professeur FRANCILLON Jacques

Chirurgie Générale - M. le Professeur LIARAS Henri

M. le Professeur DESCOTES Jacques

M. le Docteur SPAY Georges, Maître de Conférences Agrégé

Chirurgie Infantile - M. le Docteur DAUDET Maurice, Maître de Conférences
Agrégé

Chirurgie Osseuse-Orthopédique - M. le Professeur de MOURGUES Georges

M. le Docteur COMTET Jacques, Maître de
Conférences Agrégé

.../...

Dermatologie - M. le Docteur PERROT, Maître de Conférences Agrégé

Endocrinologie - M. le Docteur BERTHEZENE François, Maître de Conférences
Agrégé

Gastro-Entérologie - M. le Professeur BEL André

Génétique Générale - M. le Docteur HERMIER Michel, Maître de Conférences
Agrégé

Gynécologie - M. le Professeur ROCHET Yves

M. le Docteur BREMOND Alain, Maître de Conférences Agrégé

Hémobiologie - M. le Professeur MOREL Pierre

Hygiène - M. le Docteur MONIER Jean-Claude, Maître de Conférences Agrégé

Maladies Infectieuses - M. GIROUD Maurice, Professeur Agrégé du Val de Grâce

Maladies du Sang - M. le Professeur REVOL Louis

Médecine Expérimentale - M. le Professeur MORNEX René

Médecine Légale - M. le Professeur ROCHE Louis

Médecine du Travail - M. le Professeur BOURRET Jacques

M. le Docteur EYSSETTE

Néphrologie - M. le Professeur FRANCOIS Bernard

Neuro-Chirurgie - M. le Professeur MANSUY Louis

M. le Docteur FISCHER Georges, Maître de Conférences Agrégé

Neurologie - M. le Professeur DEVIC Michel

Obstétrique - M. le Professeur GARNIER René

Ophthalmologie - M. le Docteur PAUPERT-RAVAULT, Maître de Conférences Agrégé

Oto-Rhino-Laryngologie - M. le Professeur MARTIN Henri

Parasitologie - M. le Docteur BATTESTI

Pédiatrie - M. le Professeur FRANCOIS René

Pharmacologie - M. le Docteur EVREUX, Maître de Conférences Agrégé

Pneumo-Phtisiologie - M. le Professeur TOURAIN Roger

M. le Docteur BERNARD JP., Maître de Conférences Agrégé

Psychologie - M. le Professeur GUYOTAT Jean

M. le Docteur MARIE-CARDINE, Maître de Conférences Agrégé

Radiologie - M. le Docteur BUFFARD, Maître de Conférences Agrégé

M. le Docteur CHOLLAT Louis, Maître de Conférences Agrégé

Rhumatologie - M. le Docteur MEUNIER, Maître de Conférences Agrégé

Séméiologie Chirurgicale - M. le Docteur VIGNAL Jacques, Maître de Conférences
Agrégé

Séméiologie Médicale - M. le Professeur VIALA Jean-Jacques

Stomatologie - M. le Professeur DUMAS Pierre

Urgence-Réanimation - M. le Professeur DELEUZE Raymond

Mme le Docteur ESTANOVE Suzanne, Maître de Conférences
Agrégé

Urologie - M. le Docteur DUBERNARD P.

A mes Parents

A Gilles et Anne

A mes Grands-Parents

A ma famille

A mes amis

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur J. THIVOLET

*Nous avons appris à aimer la dermatologie au cours
de quatre mois passés dans son service.*

*Il nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre
jury de thèse.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre admiration et
de notre reconnaissance.*

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur D. COLOMB

Nous le remercions d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous l'assurons de toute notre estime et de notre reconnaissance.

Monsieur le Docteur H. PERROT

Il nous a inspiré ce travail et guidée tout au long de son élaboration. Nous le remercions de la confiance qu'il nous a témoignée et de tout le temps qu'il nous a consacré.

Nous avons été séduite par son esprit rigoureux et son souci de perfection marquant son activité.

Qu'il soit assuré de notre admiration et de notre sincère gratitude.

Monsieur le Professeur R. MALLEIN

*Nous le remercions d'avoir accepté de
juger ce travail, et de son accueil bienveillant.*

Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude.

Monsieur le Docteur M. BOUCHERAT

*Il nous a beaucoup aidée pour l'élaboration de
la partie biochimique de ce travail.*

*Nous lui en sommes reconnaissante et nous le
remercions de la cordialité qu'il nous a témoignée.*

INTRODUCTION

Les porphyries constituent un groupe d'affections connues depuis très longtemps puisqu'en 1911 GUNTHER décrivait la porphyrie érythropoïétique congénitale.

Leur fréquence, bien que relativement faible (GAJDOS (22) : 1 à 2 cas pour 100.000 habitants), ne cesse d'augmenter et il faut noter la fréquence des porteurs sans manifestations cliniques (5 à 10 fois celle des malades) (40). C'est grâce au développement des techniques biochimiques en particulier que la compréhension de ces maladies a fait des progrès sensibles.

Au début de la découverte de ces maladies, le dosage des porphyrines urinaires était le seul examen présentant un intérêt primordial pour le diagnostic. Ce n'est que vers 1950 que se développe l'intérêt des études des porphyrines fécales. En effet les résultats de ces dosages ont semblé différents selon les types de porphyries et c'est ainsi que les Sud-Africains qui avaient noté d'emblée l'augmentation nette des porphyrines fécales dans la porphyrie variegata, en ont fait un élément de dépistage.

A partir de 1961 environ, avec l'isolement de la protoporphyrine érythropoïétique par MAGNUS, on s'intéresse et on développe les dosages des porphyrines érythropoïétiques et plasmatiques.

Notre propos est d'étudier les porphyrines dans les selles de sujets porteurs de divers types de porphyries et en particulier le rôle de la chromatographie des porphyrines fécales.

REVUE SCHEMATIQUE
DE LA LITTERATURE

Nous n'étudierons pas dans ce travail les résultats des malades atteints de porphyries mais pour lesquels n'avaient été faits que des dosages des porphyrines fécales. Nous nous limitons à l'étude de la chromatographie des porphyrines fécales.

Mais auparavant dans ce chapitre nous rappellerons brièvement quelles ont été les grandes étapes du diagnostic biochimique des porphyries (4 - 22).

I - METHODES

A) DOSAGES DES PORPHYRINES FECALES

Deux techniques ont été utilisées principalement.

1) Technique de HOLT G. et RIMINGTON (29)

Elle fut utilisée par de nombreux auteurs et en particulier par EALES (16) en 1966 qui note d'ailleurs la limite de cette méthode.

Utilisant l'éther comme solvant, l'uroporphyrine, qui est soluble dans l'éther, ne peut être extraite.

2) Technique de SCHWARTZ, BERG, DOSSENMAIER et DINSMORE (47)

C'est la méthode utilisée au laboratoire de l'hôpital de l'Antiquaille avant la mise au point de la technique chromatographique actuelle.

La première phase consiste en une extraction avec le mélange acétate d'éthyle - acide acétique. Les extraits d'acétate d'éthyle sont lavés avec une solution d'acétate de sodium. Protoporphyrines et coproporphyrines sont extraites par des fractions d'acide chlorhydrique. Les uroporphyrines ne peuvent être extraites qu'après traitement du résidu solide des fèces par l'ammoniaque à 10 %.

Les mesures sont ensuite faites par spectrophotométrie.

3) Technique de RIMINGTON et LOCKWOOD (1965) pour le dosage de la porphyrine X hydrosoluble (45).

Elle est extraite par une phase aqueuse constituée par 45 % (p/v) d'urée et 4 % (v/v) de TRITON X-100.

La porphyrine X est ensuite extraite avec du n-Butanol puis une solution d'acide chlorhydrique à 5 %.

Le dosage est fait par spectrophotométrie en mesurant les densités optiques à 430, 380 et 405 nm (22).

B) METHODES CHROMATOGRAPHIQUES D'IDENTIFICATION DES PORPHYRINES

Dès 1935 des techniques de chromatographie sur colonne furent utilisées, puis appliquées systématiquement par NICHOLAS après 1951 à la séparation des porphyrines. Cette méthode utilisait des colonnes d'oxyde d'aluminium ou de carbonate de calcium ou de magnésium. Cette technique, utilisée surtout pour les urines, fut rapidement remplacée par les chromatographies sur papier puis sur couche mince (22).

1) Porphyrines estérifiées (22 - 4)

a - Préparation des esters des porphyrines fécales

L'estérification présente quelques difficultés. Deux techniques sont possibles :

- l'estérification après extraction par un solvant organique. Cette extraction est faite selon la méthode proposée par SCOTT et coll. qui utilisent le n-Butanol en milieu acide. Ensuite l'estérification est faite par mise en contact avec du méthanol comprenant 5 % d'acide sulfurique.

- l'estérification directe sur les fèces : elle est faite par adjonction aux selles desséchées de méthanol et d'acide sulfurique.

Les porphyrines estérifiées sont ensuite ~~extraites~~ par le chloroforme.

b - Chromatographie sur papier

Elle permet une séparation des isomères des porphyrines. Trois méthodes sont employées de façon courante.

- méthode de CHU, GREEN et CHU.

C'est une chromatographie ascendante sur papier Whatman n°1, utilisant deux solvants différents : tout d'abord le système kérosène-chloroforme dans une atmosphère de chloroforme (permettant la séparation des porphyrines à 2, 4 et 8 carboxyles), puis le système kérosène-n-propanol dans une atmosphère saturée en kérosène (ce second développement permet la séparation des isomères des coproporphyrines.)

- méthode de FALK et BENSON.

- méthode de CORNFORD et BENSON.

c - Chromatographie sur couche mince

C'est la technique la plus récente, utilisée depuis 1966 par divers auteurs. Les différences dans les méthodes résident principalement dans la nature du solvant, le support étant constitué par du gel de silice.

- Technique de CHU et CHU (1967)

Pour les fèces, il faut donc d'abord faire une estérification par le n-Butanol en milieu acide.

La méthode utilise un support en gel de silice et comme solvant le système kérosène-chloroforme (3-7 v/v) (6).

- Chromatographies bi-dimensionnelles :

. ELDER et coll. en 1971 utilisent une technique à 2 dimensions leur permettant l'isolement des esters méthylés de la série des isocoproporphyrines, migrant entre coproporphyrines et les porphyrines à 5 carboxyles (18).

. SMITH S.G. décrit également une technique de chromatographie sur couche mince à 2 dimensions pour la séparation des isomères, méthode utilisée en particulier par PINOL et AGUADE (48).

Ces techniques consistent en deux chromatographies successives utilisant des solvants différents. Le support est un gel de silice.

2) Porphyrines libres

a - Extraction des porphyrines libres fécales

Une simple extraction par l'ammoniaque comme il est fait dans les urines ne suffit pas. Il faut utiliser le même procédé que pour la préparation des esters méthyliques des porphyrines fécales, c'est-à-dire le n-Butanol en milieu chlorhydrique que l'on fait agir sur des selles desséchées.

b - Chromatographie sur papier

- Méthode de NICHOLAS et RIMINGTON (1949). A l'origine elle utilisait comme solvant un mélange eau-2,4-2,6-lutidine et le papier était employé en chromatographie descendante (38).

- KEHL et STICH, puis plus tard ERICKSEN (20) proposèrent une méthode dérivée de cette dernière mais qui est en fait une chromatographie ascendante employant comme solvant le 2-6 lutidine en phase ammoniacale.

c - Chromatographie sur couche mince

Les techniques de séparation des porphyrines libres sont plus rares.

Quelques méthodes ont cependant été décrites que nous énumérons rapidement :

	<u>Solvant</u>	<u>Support</u>
. technique de MUNDCHENK	2-6 lutidine - H_2O	Gel de silice
. SCOTT	chloroforme-méthanol - ammoniaque - eau	"
. ELLFOLK	1° benzène-méthanol-a. formique 2° chloroforme-méthanol-a. formique	"
. GAJDOS	2-6 lutidine - H_2O	couche de cellulose

Pour toutes ces méthodes chromatographiques, on utilise ensuite la spectrophotométrie car toutes les porphyrines ont une bande d'absorption dans le proche ultra-violet, appelée bande de Soret. Les spectrophotomètres permettent d'apprécier avec précision la densité optique à la longueur d'onde du sommet de cette bande de Soret.

II - RESULTATS

A) P. C. T. (10)

1) Etude quantitative

La plupart des auteurs, qu'ils utilisent comme techniques bio-chimiques un simple dosage des porphyrines ou une méthode chromatographique, plus précise, sont d'accord entre eux pour affirmer que dans la P. C. T., le taux des porphyrines fécales est normal ou modérément élevé (15-40-41-42). De plus ce taux n'atteint que très rarement 500 γ par gramme de selles sèches.

HAEGER-ARONSEN et coll. (27) estiment que l'excrétion des porphyrines fécales occupe une position intermédiaire dans la P. C. T. (entre porphyrines mixtes et P. A. I.). Mais dans cette étude il n'existe pas de résultats chiffrés.

EALES et coll. (16) utilisant la méthode de HOLTI dont il soulignent par la même occasion les limites, trouvent des taux inférieurs à 200 γ dans 84 % des cas. Et dans ce même travail, un seul cas présente une valeur des porphyrines fécales supérieure à 500 γ .

2) Etude qualitative

a - Dans la plupart des cas, les coproporphyrines seraient plus élevées que les protoporphyrines.

- EALES (16) obtenait en 1966 les résultats suivants :

Pour 92 % des cas les protoporphyrines fécales sont inférieures à 100 γ (moyenne des valeurs à 48 γ) et excèdent 200 γ dans seulement 1 % des cas et les coproporphyrines fécales sont inférieures à 100 γ dans 77 % des cas (moyenne des valeurs à 72 γ).

Il utilisait à l'époque une méthode de dosage ne lui permettant de détecter que les copro et les protop. tandis que

- PIÑOL AGUADE (44) et coll. utilisent une méthode de chromatographie sur couche mince (technique d'homogénéisation de ELDER et PATH (1971) puis chromatographie selon un système à deux dimensions de SMITH). Malgré tout ses conclusions sont sensiblement identiques. Grâce à cette technique, il met en évidence l'isocoproporphyrine et trouve que dans 60 % des cas soit les coproporphyrines, soit l'isocoproporphyrine présentent les valeurs les plus élevées.

Dans tous les cas par contre, les protoporphyrines sont excrétées aux taux les plus faibles, ce qui n'était pas mis en évidence par la méthode utilisée par EALES.

b - Les isomères des coproporphyrines (18-19-44)

C'est grâce au développement des techniques chromatographiques qu'ELDER et coll. (en 1971) mettent en évidence (utilisant leur méthode bi-dimensionnelle) dans les fèces (et dans les urines) trois nouvelles porphyrines migrant entre coprop. et porphyrines pentacarboxylées.

PINOL AGUADE confirme les découvertes d'ELDER et coll. Ceux-ci, en effet, et à leur suite plusieurs auteurs, admettent comme un des traits les plus caractéristiques de la P. C. T., l'élimination fécale de certaines variétés de porphyrines. Quatre sortes ont été isolées des selles de malades atteints de P. C. T. :

- l'isocoproporphyrine
- la dé-éthylisocoproporphyrine
- l'hydroxyisocoproporphyrine (migre à hauteur des urop.)
- le déhydroisocoproporphyrinogène serait un précurseur des précédentes, produit par décarboxylation et deshydrogénation de l'un des groupements propionyl du porphyrinogène III pentacarboxylé.

{ migrant entre P₅ et coprop.

Les trois porphyrines décrites par ELDER sont tétracarboxylées et sont des analogues de la coproporphyrine dans laquelle un groupement propionyl est remplacé par un autre résidu d'acide acétique.

Le taux fécal de ces trois nouvelles porphyrines atteindrait des valeurs assez élevées dans ce type de porphyrie alors qu'elles ne sont pas décelées dans les autres cas et chez les sujets témoins (d'après ELDER). En fait, elles existeraient aussi parfois chez des sujets atteints de P. variata et même chez des sujets normaux (40).

c - Les intermédiaires entre urop. et protop.

C'est l'utilisation de la chromatographie sur couche mince des porphyrines estérifiées qui a permis d'isoler tous les intermédiaires entre urop. et protop. . Ces intermédiaires ont été désignés selon leur nombre de groupements carboxyliques.

La chromatographie des porphyrines libres permet surtout la séparation des isomères I et III, analyse qui ne présente pas un intérêt primordial pour le diagnostic des porphyries. Elle est plus volontiers utilisée sur les urines, mais DOWDLE et coll. (15) ont montré une prépondérance des isomères I pour l'urop., des isomères III pour les porphyrines hepta et hexacarboxylées et pour coprop. et protop., 50 % d'isomères I et 50 % d'isomère III dans les fèces d'un cas.

Les divers auteurs, depuis la découverte de ces intermédiaires ne semblent pas d'accord sur la ou les porphyrines prédominantes dans les fèces pour ce type de porphyrie.

Pour EALES et coll. en 1975, dans 35 % des cas (parmi 22 malades étudiés) le dérivé pentacarboxylé est la porphyrine prédominante, et dans tous les cas plus élevé que dans les autres types de porphyrie.

Pour PIÑOL AGUADE, ce sont toujours coprop. et isocoprop. qui prédominent, les valeurs des dérivés pentacarboxyliques étant toujours inférieures à ceux-là.

d - Chromatographie urinaire - chromatographie fécale.

Il semble que l'élimination fécale des porphyrines peut évoluer parallèlement à celle des porphyrines urinaires ; mais dans certains cas on trouve un certain balancement, l'élimination augmentant légèrement dans les fèces lorsque les porphyrines urinaires s'abaissent (41 - 42).

La chromatographie des porphyrines fécales, dans la P. C. T., n'est pas aussi caractéristique que celle effectuée dans les urines qui montre l'élimination très nette des P_8 et P_7 .

B) PORPHYRIE VARIEGATA

1) Etude quantitative

Le diagnostic de la porphyrie variegata repose, entre autres critères, sur le taux élevé des porphyrines fécales. Pratiquement tous les auteurs, Sud-Africains ou autres, sont du même avis (28-37-43-51-52).

Peu d'auteurs, par contre, chiffrent de façon précise la hauteur des valeurs trouvées dans leurs études. EALES et coll. en 1966 (utilisant la méthode de HOLTI) constatent que 92 % de leurs malades présentent des porphyrines fécales totales supérieures à 500 γ par gramme de selles sèches. Ces malades étaient pris à n'importe quelle phase de la maladie.

Cette excrétion fécale élevée persiste pendant les périodes de rémission. Ainsi EALES montre que les valeurs des porphyrines totales en période de poussées aiguës sont identiques ou supérieures aux valeurs trouvées en période de rémission, tandis que l'excrétion urinaire est normale ou pratiquement normale. Ce balancement entre les deux voies d'excrétion avait déjà été signalé en 1952 par NICHOLAS et RIMINGTON (22).

2) Etude qualitative

Le deuxième critère de diagnostic des P. V. est l'analyse des porphyrines éliminées dans les fèces avec en particulier la forte élimination des protop. et coprop. ; c'est principalement la protop. qui est augmentée

avec un rapport $\frac{\text{protop.}}{\text{coprop.}}$ supérieur à 1 (16-28-46).

PINOL-AGUADE (44) étudie 3 cas de P. V. . Pour ces 3 cas, les résultats sont les mêmes : $P_2 > P_4 > P_3$.

Il constate par ailleurs que dans la population témoin, si les coprop. sont toujours présentes en petites quantités, les protop. ne le sont qu'occasionnellement.

EALLES donne les résultats suivants :

74 malades étudiés :

. P_2 : 695 γ (moyenne) - (100-2460)

. P_4 : 412 γ (moyenne) - (71-3471)

L'étude des sujets témoins donne ici

95 % porphyrines fécales inférieures à 95 γ

avec

$P_2 < 75$

$P_4 < 27$.

Tout ceci montre bien que l'analyse biochimique des selles, dans cette variété de porphyrie, apporte le diagnostic dans une grande partie des cas.

Que ce soit en phase de latence ou en phase aiguë viscérale ou même dans une P. V. avec signes cutanés isolés, les protoporphyrines restent très élevées et l'analyse des selles permet la différence entre PAI et PV en particulier. EALLES (16) trouve en phase aiguë des taux égaux ou plus élevés qu'en période de latence.

3) La porphyrine "X" fécale

En 1968, RIMINGTON et coll. en étudiant une famille de P. V. , mirent en évidence l'élimination fécale abondante d'une porphyrine nouvelle, également retrouvée dans la bile et les urines parfois lors de poussées aiguës : la porphynie "X" . Son élimination fécale est faible chez le sujet normal, au cours de la protop. érythropoïétique, de la coproporphyririe héréditaire et modérément élevée au cours de la P.A.I.

Cette porphyrine, très hydrophile, est constituée de la conjugaison de peptides et de porphyrines, mais en fait elle est très hétérogène (2). Elle persiste dans les fèces après extraction classique par l'éther et l'acide acétique et peut être extraite par l'urée- triton.

RIMINGTON et coll. estimaient que le taux élevé dans les fèces de la porphyrine "X" caractérisait une P. V. . Or EALLES en 1971, puis

MOORE et coll. (35) ont trouvé des valeurs aussi élevées dans les P.C.T. non traitées que dans la P.V., opinion confirmée par les travaux d'ELDER et coll. en 1974, et par EALES et coll. en 1975.

RIMINGTON, quant à lui, est très catégorique. Il pense que les chiffres élevés de porphyrine "X" trouvés dans certains cas de coproporphyrine héréditaire et de maladie de GUNTHER ne seraient en fait que des coprop. et des urop. et l'isolement dans la porphyrine érythropoïétique congénitale ne serait due qu'à des difficultés d'extraction (49).

On peut donc considérer que les dosages quantitatifs de la porphyrine "X" ne peuvent être utilisés comme moyen de diagnostic. Par contre les études qualitatives montrent que la nature de la porphyrine "X" est variable selon le type de porphyrine et permettent donc la séparation : dans la P.V., il s'agit d'un conjugué peptide-porphyrine tandis que dans la P.C.T. c'est une porphyrine heptacarboxylique.

C) COPROPORPHYRIE HEREDITAIRE

Le terme coproporphyrine héréditaire fut proposé en premier par BERGER et GOLDBERG en 1955 quand ils décrivirent ce type de porphyrine dans une famille suisse, mais en 1936 DOBRINER, puis en 1949 WATSON et coll. avaient déjà communiqué des cas présentant une excrétion urinaire et fécale de coproporphyrines élevée, sans autres anomalies du métabolisme des porphyrines (8-36).

Cette affection, assez rare semble-t-il, qui atteint l'homme et la femme en proportions identiques et à des âges variables, se manifeste de façon assez proche de la P.A.I. avec de fréquentes manifestations psychiques. Des troubles cutanés ont parfois été notés, toutefois assez rarement (21-36-40).

Du point de vue biochimique, le diagnostic est basé essentiellement sur l'élimination massive dans les urines et les selles de la coproporphyrine. Le taux des porphyrines fécales est extrêmement élevé, portant surtout et parfois même exclusivement sur les coprop. Les protop., quant à elles, restent basses. L'étude des porphyrines fécales a donc beaucoup d'importance pour distinguer les trois formes de porphyrine hépatique présentant des formes aiguës ; en effet dans les deux autres formes les porphyrines fécales sont légèrement augmentées (P.A.I.) et les P_2 élevées (P.V.) (9-27-44-31).

Une étude de GOLDBERG et RIMINGTON (25), confirmée par d'autres auteurs (9-17) montre que l'excrétion de la coproporphyrine porte principalement sur l'isomère III. La coprop. III est la principale porphyrine anormale dans les féces et ceci est expliqué par le défaut génétique qui paraît être la diminution de l'activité de la coproporphyrinogène III oxydase (26-27-23-32).

D) PORPHYRIE AIGUE INTERMITTENTE

C'est la troisième forme de porphyrie hépatique se caractérisant par des crises douloureuses abdominales aiguës. En France elle est plus fréquente que les deux autres.

La clinique est très proche dans les trois formes et la seule manière d'assurer le diagnostic est l'étude des anomalies biologiques. Les anomalies urinaires en crise aiguë étant également très proches dans les trois cas, la nécessité de demander un dosage des porphyrines fécales apparaît évidente, permettant de différencier P.A.I., P.V. et coproporphyrurie.

NORDMANN et VERNEUIL (40) publient le tableau suivant :

Porphyrines fécales

	URO	COPRO	PROTO
P. A. I.	+	+	+
C. P.	+	+++	+
P. V.	+	+++	+++

Ainsi dans la P.A.I., classiquement l'excrétion des porphyrines fécales est modérément élevée ou même normale ; mais en 1963 EALES et coll. décrivaient une forme de P.A.I. avec des porphyrines fécales aussi élevées que dans les P. V. . En fait l'étude qualitative permet en principe le diagnostic montrant dans la P.A.I. des taux des protop. et des coprop. modérément élevés (27-37-51) et donc non significatifs (50).

L'étude des isomères montre que dans cette forme les diverses porphyrines excrétées sont toutes du type III.

Après diverses études (depuis GRANICK en 1966) il a été découvert l'origine de la P.A.I. . Il a été prouvé en effet que c'est le déficit en uroporphyrinogène I synthétase qui est en cause (3).

E) PROTOPORPHYRIE ERYTHROPOIETIQUE

Affection individualisée en 1961 par MAGNUS et se caractérisant dès l'enfance par un pseudo-urticaire solaire, elle se caractérise du point de vue biochimique par une élimination des porphyrines et des précurseurs normale.

L'élévation de la protoporphyrine fécale qu'avait notée MAGNUS est variable et peut manquer chez certains sujets.

TSCHUDY (50) a parfois trouvé une élévation de la protoporphyrine érythrocytaire sans augmentation de la protoporphyrine fécale ou inversement. Il paraît donc que les deux examens sont nécessaires et que le seul dosage dans les globules rouges ne suffise pas toujours.

PIÑOL-AGUADE sur un seul cas confirme l'augmentation de la protop. avec PP $\gg$ CP. Aucune autre porphyrine n'est révélée par la chromatographie.

PERROT (40) trouve que l'élimination de la protoporphyrine est très variable chez un même sujet et que l'élimination de la coproporphyrine est souvent plus marquée que celle de la protoporphyrine. En fait ces constatations ont été faites avant l'utilisation de la chromatographie des porphyrines fécales. Les chromatographies chez les mêmes patients qui avaient été alors étudiés ont donné ensuite des résultats comparables aux dires de la littérature.

F) PORPHYRIE ERYTHROPOIETIQUE CONGÉNITALE DE GUNTHER

C'est la porphyrie la plus rare dont le diagnostic est fait dans les premières années de la vie. Il s'agit d'un syndrome bulleux photosensible des parties découvertes avec émission d'urines rouges et érythrodontie, entre autres signes cliniques.

Les altérations biochimiques consistent en la présence d'Isomères I des porphyrines dans le sang, l'urine et les selles.

Une publication récente de MASCARO-GALY (34) met en évidence la présence dans les selles de grande quantité de coproporphyrine de type I : lors de l'étude d'un cas de maladie de GUNTHER, les premières analyses, effectuées selon la méthode de RIMINGTON, isolèrent une porphyrine X "like" présente en abondance dans les selles. L'extraction avait été très difficile (MAGNUS et RIMINGTON avaient déjà signalé de telles difficultés) et des échantillons sont de nouveau étudiés, cette fois selon la méthode de SMITH. Celui-ci isole en grande quantité une coproporphyrine I et pas de porphyrine X. Il semble donc que la porphyrine X trouvée ne soit en fait qu'une coproporphyrine I (34-40).

TRAVAUX PERSONNELS

I - PRESENTATION DES TECHNIQUES ET DES MALADES

A) LA TECHNIQUE UTILISEE

1) Dosage chromatographique des porphyrines fécales

Nous relatons ici la technique utilisée au laboratoire de l'hôpital de l'Antiquaille depuis 1973. Cette technique nouvelle, personnelle à ce laboratoire et qui n'a pas été publiée jusqu'à présent est dérivée de la méthode de DOSS (13).

a - Extraction - Estérification

A 10 à 20 mg de selles sèches, pesées exactement puis placées dans un tube à centrifuger à fond conique et desséchées pendant 48 heures sous vide sulfurique, on ajoute 4 ml du mélange méthanol-acide sulfurique dans les proportions 95/5 v/v. Il faut ensuite bien agiter en s'aidant d'un agitateur puis laisser ce mélange pendant 30 minutes à l'étuve à 37°C, et à l'abri de la lumière.

On centrifuge puis on recueille le surnageant. On fait ensuite un lavage avec 4 ml de méthanol. On centrifuge de nouveau, on recueille le surnageant puis on rassemble les phases méthanoliques.

Il faut alors ajouter rapidement au mélange méthanolique 5 ml d'eau distillée puis agiter vivement pendant peu de temps (10 secondes) pour éviter l'hydrolyse des esters méthyliques des porphyrines.

A ce mélange on rajoute toujours très rapidement 4 ml de chloroforme car les esters des porphyrines passent dans le chloroforme.

On lave les phase chloroformiques avec 3 ml d'eau distillée. La phase aqueuse de lavage est extraite avec 2 ml de chloroforme. Les extraits chloroformiques sont rassemblés et centrifugés. La phase chloroformique est lavée rapidement avec 5 ml d'une solution à 5 % (p/v) d'hydrogène-carbonate de sodium.

Après filtration, on recueille la phase chloroformique que l'on fait sécher sur une petite quantité de sulfate de sodium (Na_2SO_4) anhydre et l'on filtre.

Il faut ensuite évaporer sous azote. Si le résidu obtenu est gras,

il est nécessaire de le reprendre et de le filtrer à nouveau puis on évapore sous azote.

Enfin les extraits secs sont repris par 25 μ l de chloroforme.

b - chromatographie

L'extrait total (25 μ l) est chromatographié sur couche mince sur plaque de gel de silice MERCK (F-254) pré-traitée. Le pré-traitement consiste à laver les plaques en faisant migrer successivement le mélange chloroforme-méthanol (2/1 v/v) puis le mélange chloroforme-méthanol (1/2 v/v). Les plaques sont ensuite séchées à l'air puis réactivées par passage à l'étuve à 80°C pendant 30 minutes. On dispose les témoins : URO I, COPRO I, PROTO.

Le solvant de migration utilisé est le mélange benzène-acétate d'éthyle-méthanol dans les proportions (85/13,5/1,5 v/v).

c - Elution et dosage

Les spots des différentes porphyrines sont mis en évidence en lumière de WOOD puis grattés et élués. L'élution est faite en tube à centrifuger par 3 ml de chloroforme (CHCL₃).

Les mesures sont faites au spectrophotomètre UNICAM SP. 800, aux longueurs d'onde suivantes :

uroporphyrines	405,5 nm
P. heptacarboxyliques	404
P. hexacarboxyliques	402,5
P. pentacarboxyliques	401
coproporphyrines	399,5
protoporphyrines	407,5

d - Calculs

Il faut déterminer la valeur de E = esters méthyliques.

$$E = \frac{\mu\text{g} / \text{ml}}{1 \text{ cm}}$$

- uroporphyrines	0,230
- p. heptacarboxylées	0,234
- p. hexacarboxylées	0,239
- p. pentacarboxylées	0,246
- coprop.	0,253
- protop.	0,289

Calcul :

$$\frac{D.O}{E} \times 3 \times \frac{100}{10}$$

$\downarrow$ volume éluat
 $\uparrow$ volume prise d'essai

2) Etude de sujets témoins

Cette technique chromatographique a donc été mise en application chez 5 sujets témoins considérés comme normaux.

Les résultats de la chromatographie des porphyrines fécales sont les suivants :

10.03.1977	P ₈	P ₇	P ₆	P ₅	P ₄	P ₂	Total
M. C.M.	0	0	0	0	20	10	30
M. B. René	0	0	0	0	10	5	15
M. BR. Jean	0	0	0	0	10	13	23
M. R. Al.	0	0	0	0	0	5	5
M. L. Michel	0	0	0	0	5	11	16

Nous voyons donc que chez ces sujets normaux, l'élimination des porphyrines fécales ne porte que sur les coproporphyrines et les protoporphyrines, ne dépassant jamais dans ces 5 cas 20 %/gramme de selles sèches. Quant à la quantité totale éliminée dans les fèces, elle varie de 5 à 30 % maximum.

B) PRESENTATION DES MALADES ETUDIES

Notre étude porte sur un total de 51 chromatographies ayant été effectuées depuis décembre 1973, pour la plupart au laboratoire de l'hôpital de l'Antiquaille, chez 30 malades suivis au Pavillon R de l'Hôpital Edouard-Herriot et 14 personnes appartenant à la proche famille de ces patients (tant ascendants, collatéraux que descendants).

Ainsi les différentes catégories de porphyries se trouvent représentées de la manière suivante :

1) Porphyries hépatiques

Nous les étudierons par ordre de représentativité dans notre travail.

a - La porphyrie cutanée tardive (P.C.T.)

C'est dans cette catégorie de porphyrie que nous avons le plus de malades.

20 personnes, pour lesquelles avait pu être posé le diagnostic de P.C.T., ont subi au moins une chromatographie des porphyrines dans les fèces. Mais deux d'entre elles en ayant eu respectivement l'une 3, l'autre 4, c'est sur un total de 25 chromatographies que nous faisons l'étude de cette porphyrie.

Pour ces malades, tous atteints cliniquement, le diagnostic avait été formulé sur l'association des signes cutanés (pouvant aller d'une simple fragilité cutanée à l'apparition plus caractéristique de bulles), de divers autres signes cliniques telle l'émission d'urines rouges et sur un certain nombre d'examens para-cliniques, en particulier les chromatographies urinaires.

Ce groupe est composé de 18 hommes et de 2 femmes, ce qui correspond bien avec l'atteinte prédominante décrite classiquement, du sexe masculin. La moyenne d'âge est de 53 ans, notion également classique, mais les extrêmes vont de 22 ans à 71 ans lors de la première consultation.

On peut également noter la prise de Distilbène un an auparavant chez l'un des 20 malades et celle d'Androtardyl-Oestradiol pendant 10 ans chez une autre.

b - Les porphyries mixtes

Nous avons préféré employer ce terme pour cette deuxième catégorie de porphyries hépatiques, terme sous lequel nous ferons rentrer en fait d'une part les porphyries variegata et d'autre part les coproporphyrines héréditaires ; le diagnostic est la plupart du temps impossible par le seul biais de la clinique. Nous verrons donc le rôle de la chromatographie des porphyrines fécales précisément dans ce cas.

Ce groupe est représenté par 8 chromatographies ayant été effectuées chez 7 malades qui se sont révélés plus tard être :

- 5 porphyries variegata
- 2 coproporphyrines héréditaires.

Tandis que classiquement cette maladie survient à peu près à égalité dans les deux sexes, il se trouve que nous avons personnellement 6 femmes pour 1 homme. La moyenne d'âge est là de 22 ans (17 et 41 ans pour les extrêmes).

En fonction des différentes formes cliniques, de la symptomatologie présentée, nous pouvons faire une sous-classification :

- Trois parmi ces personnes ont été vues en consultation pour l'association de signes cutanés caractéristiques de porphyrie (bulles du dos des mains - photosensibilisation, ...) et de crises douloureuses abdominales. Le diagnostic avait donc pu être posé sur la simple vue de cette symptomatologie très variée et confirmé par les divers signes biologiques et biochimiques.

- Dans trois autres cas, les signes cutanés étaient entièrement isolés. Le diagnostic évoqué risque dans un tel cas d'être celui de P.C.T., tant que des crises viscérales n'ont pas lieu. Or il est important de faire le diagnostic de P.V. afin d'éviter les accidents aigus en supprimant les médicaments déclenchants. Pour l'un des 3 malades, la notion d'une porphyrie mixte déjà présente chez la mère facilitait le diagnostic mais dans tous les autres cas, le diagnostic doit être basé surtout sur les signes biochimiques et en particulier sur les chromatographies.

Pour ces 3 malades, les résultats de ces dernières différaient nettement de ce qui est obtenu habituellement dans la P.C.T. . De plus l'âge d'atteinte était nettement plus en faveur de la porphyrie mixte.

- Enfin une seule personne n'ayant présenté que des signes viscéraux à type de crises douloureuses abdominales avec émission d'urines rouges faisant suite à une intervention chirurgicale, la question se posait du diagnostic avec la P.A.I. . Mais une élimination très caractéristique des porphyrines tant urinaires que fécales a permis d'aboutir au diagnostic de coproporphyrine héréditaire.

Pour 4 de ces malades une enquête familiale avec chromatographie des porphyrines fécales a été entreprise. Parmi les 12 personnes (soit 12 chromatographies) dont l'exploration a été effectuée, 3 d'entre elles (et peut-être même 4) étaient des formes latentes, cliniquement saines.

Nous avons donc pu étudier dans ce travail vingt chromatographies.

c - La porphyrie aiguë intermittente (P.A.I.)

D'après les différents auteurs, en particulier d'après WALDENSTRÖM, il s'agit d'une maladie héréditaire d'une grande fréquence atteignant plus souvent les femmes et apparaissant assez tardivement après 20 ou 30 ans ; mais les crises ne sont produites souvent que sous l'effet de facteurs déclenchants.

Dans notre étude nous n'avons malheureusement qu'une seule malade ayant eu une étude chromatographique de ses porphyrines. Il est donc assez délicat d'en tirer des conclusions.

Une enquête ayant été faite parmi ses descendants, 2 garçons,

nous avons en fait pour ce groupe 3 chromatographies. Nous pouvons d'ailleurs signaler dès à présent que l'un des enfants présentait une forme latente de P.A.I., affirmée sur la diminution de l'uroporphyrinogène I synthétase érythrocytaire.

2) Porphyries érythropoïétiques

Trois sortes en ont été décrites dans la littérature.

- La coproporphyririe érythropoïétique héréditaire est tout à fait exceptionnelle. Nous n'avons donc pas de cas de ce type.

- Nous n'avons pas non plus de malade atteint de porphyrie érythropoïétique congénitale ou maladie de GUNTHER, très rare également.

- Quant à la protoporphyririe érythropoïétique, qui a été décrite par MAGNUS et RIMINGTON en 1961 et qui est une maladie héréditaire, deux parmi les malades atteints ont eu des explorations chromatographiques (3 chromatographies).

Pour ces deux jeunes personnes, une enquête familiale a été entreprise mais malheureusement les chromatographies des porphyrines fécales n'ont pas été effectuées.

II - RESULTATS ET COMMENTAIRES

Nous étudierons dans ce travail l'élimination des porphyrines fécales tant sur le plan quantitatif que sur le plan qualitatif, de façon à dégager l'importance respective de ces deux aspects de la chromatographie, à montrer les points les plus importants et nécessaires au diagnostic des différentes porphyries entre elles et en définitive à mettre en évidence le rôle et l'intérêt de la chromatographie des porphyrines fécales.

Pour chaque étude, quantitative puis qualitative, nous prendrons chaque type de porphyrie l'une après l'autre.

A) ETUDE QUANTITATIVE

Il s'est agi dans cette partie, d'étudier la quantité totale des porphyrines éliminées dans les selles.

Les résultats sont consignés dans le tableau n° 1.

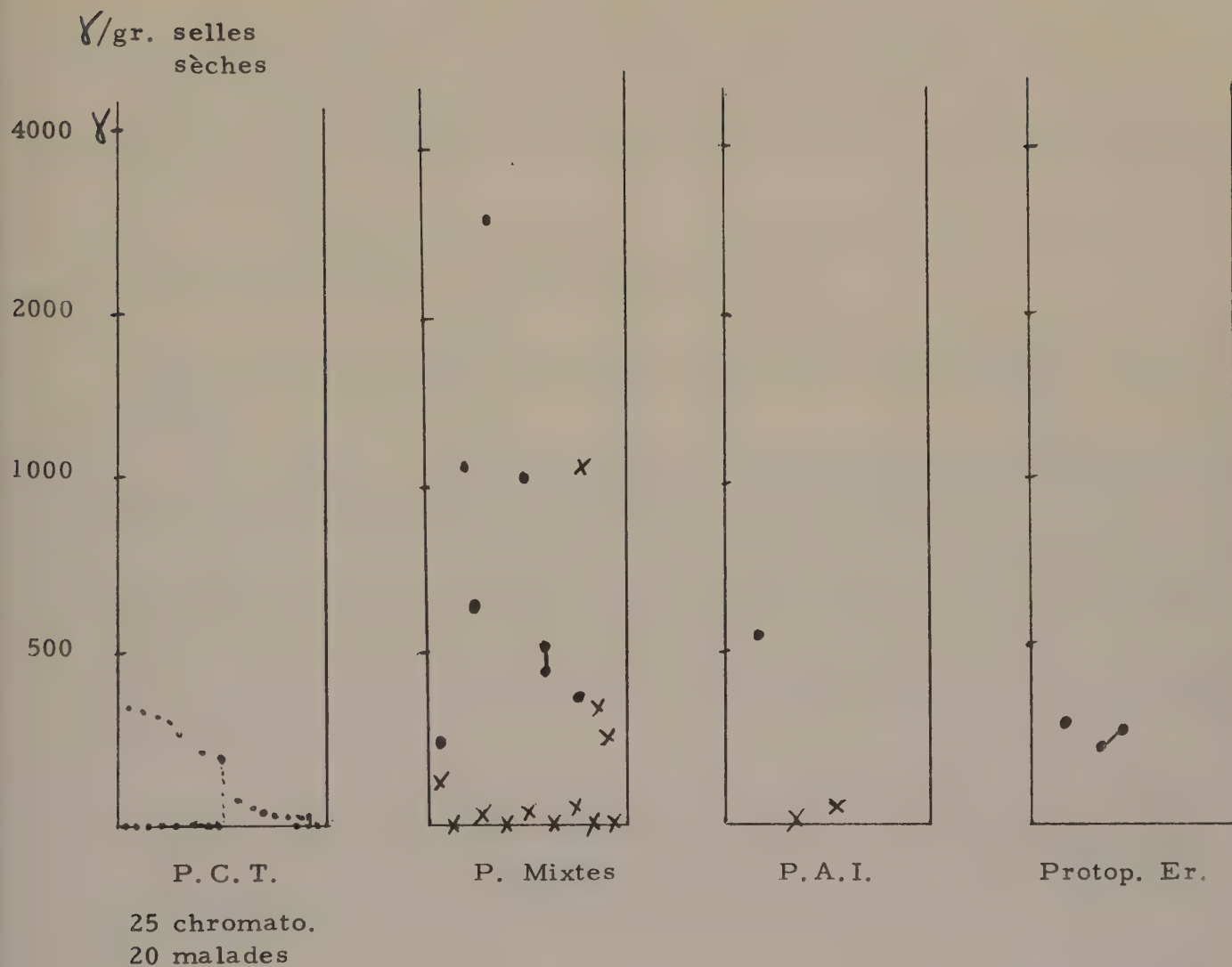


Tableau n° 1

- malades cliniquement atteints.
- × étude des sujets cliniquement sains dans les familles de porphyriques.

Porphyrines fécales totales dans les 4 types de porphyries

1) Porphyrie cutanée tardive.

Il ressort un certain nombre de points importants de ce tableau.

- Les chiffres s'échelonnent de 0 à 359 γ par gramme de poids sec mais la valeur totale des porphyrines est dans l'ensemble modérée. 15 malades (sur 20) ont des porphyrines fécales inférieures à 250 γ ce qui représente 75 % des patients. Parmi les 25 chromatographies concernant ces 20 malades, 20 (soit 80 %) sont inférieures à 250 γ . Les cinq autres malades ont des porphyrines totales s'échelonnant de 280 à 369 γ /gramme de selles sèches.

- Plus précisément on peut pratiquement mettre en évidence trois groupes selon les valeurs des porphyrines :

. Le 1er groupe le plus important, est composé de 11 chromatographies (44 %) entièrement négatives, ce qui est assez considérable.

. Ensuite un petit groupe de 7 chromatographies dans lequel l'élimination totale des porphyrines est inférieure à 90 γ .

. Enfin nous trouvons un troisième groupe comprenant également 7 chromatographies et pour lequel la quantité totale des porphyrines excrétées dans les fèces est supérieure à 90 γ .

- Si l'on se réfère à la symptomatologie, on ne peut guère tirer de conclusion.

Il ne semble pas tout d'abord y avoir de rapport entre soit la présence, soit l'absence de porphyrines fécales et l'état clinique des malades. Ainsi plusieurs malades lors de la première consultation, bien que présentant une poussée aiguë avec des chromatographies urinaires très perturbées, avaient une élimination fécale négative.

L'inverse est également possible puisque en période de rémission, des patients ont une chromatographie dans les selles très anormale bien qu'ils ne présentent au point de vue clinique que des lésions post-bulleuses ou une simple fragilité cutanée.

De plus parmi les 7 personnes aux chromatographies les plus élevées, 2 au moins étaient sous traitement (en général saignées).

Nous voudrions parler un peu plus longuement du cas de l'une des malades :

Madame D. âgée de 60 ans lors de la première consultation et suivie depuis 1970, avait subi un traitement par soustractions sanguines répétées, ce jusqu'en 1974. Depuis le mois de septembre 1972 elle ne présentait plus de bulles.

En juin 1976 des chromatographies urinaires très perturbées et caractéristiques de P. C. T., malgré des recherches négatives dans les fèces à trois reprises, avaient conduit à reprendre les saignées.

En février 1977, une nouvelle chromatographie dans les fèces se révèle positive (valeur totale 194 γ) tandis que l'élimination urinaire, tout en étant toujours positive, est améliorée par rapport aux précédentes et de plus beaucoup moins caractéristique d'une P. C. T.

On peut donc se demander si parfois il n'existe pas un certain balancement avec augmentation de l'élimination des porphyrines dans les fèces lorsqu'elle diminue dans les urines. Mais il ne s'agit que d'une simple hypothèse basée sur ce seul cas dans notre étude.

- Nous signalerons encore un autre point : aucun rapport ne peut être mis en évidence entre les valeurs des porphyrines totales et une quelconque notion d'âge. Les extrêmes des âges se retrouvent dans les valeurs les plus hautes des porphyrines.

2) Porphyries mixtes

a - Les malades : atteinte clinique

- Pour ce groupe :

- . 6 des 7 malades ont des porphyrines totales dans les fèces supérieures à 250 γ (soit près de 86 %),
- . 3 malades sur 7 ou plutôt 3 chromatographies sur 8 (l'une des malades a subi 2 chromatographies dont les valeurs varient de part et d'autre de 500 γ) donnent des porphyrines totales inférieures à 500 γ .

Les valeurs extrêmes pour la porphyrie mixte vont de 234 γ à 3448 γ par gramme de selles sèches.

- En période de rémission, l'élimination des porphyrines reste aussi importante comme le montre le cas d'une malade dont les porphyrines totales dans les fèces sont à 1056 γ /gr. malgré une rémission clinique.

- La valeur de l'élimination fécale des porphyrines ne semble pas influencée par la symptomatologie clinique cutanée ou viscérale.

b - Enquêtes familiales

- Sur les 12 chromatographies qui font partie de cette étude, seulement 4 d'entre elles donnent des valeurs pouvant être considérées comme pathologiques (les huit autres tournent autour de la valeur nulle).

- Pour trois d'entre elles, les valeurs sont moyennes, allant de 107 à 323 γ /gramme de selles sèches et donc dans l'ensemble inférieures à ce qui est décrit pour les formes patentées.

Ces trois chromatographies sont celles effectuées chez 3 des cinq frères et soeurs de l'une des malades. Nous y reviendrons plus tard mais on peut dès à présent noter une chromatographie des porphyrines fécales nulle chez le père et normale chez la mère, ne permettant pas de connaître le porteur de la tare (les précurseurs sont un peu supérieurs à la normale chez la mère).

La quatrième chromatographie est beaucoup plus pathologique avec une élimination totale atteignant 1118 γ et nous verrons grâce à l'étude qualitative à quoi cela correspond exactement.

3) Porphyrie aiguë intermittente

Nous ne nous étendrons pas sur ce sujet où nous n'avons malheureusement qu'une seule malade, ce qui ne nous permet pas de tirer beaucoup de conclusion. Pour cette malade, la quantité totale des porphyrines est assez élevée (542 γ) et ne se différencie donc guère des porphyries mixtes.

Quant aux deux enfants de cette malade, leur chromatographie est négative pour l'un et normale pour l'autre, or l'un d'entre eux est très certainement atteint puisque l'uroporphyrinogène I synthétase érythrocytaire est diminuée.

4) Protoporphyrie érythropoïétique

De même nous ne dirons que peu de choses sur l'étude quantitative de cette porphyrie.

Les trois valeurs sont moyennement élevées (140 à 300 γ) et à elle seule cette étude quantitative ne permet en aucune façon d'affirmer un diagnostic. Il est absolument nécessaire de compléter le travail par une étude qualitative ; c'est-à-dire d'étudier les types de porphyrines éliminées de façon préférentielle selon la catégorie de porphyries.

B) ETUDE QUALITATIVE

Nous avons tenté de voir les rapports des porphyrines entre elles, de voir dans chaque type de porphyrie quels étaient les points essentiels et typiques pour le diagnostic de telle ou telle porphyrie, et de dégager les questions qui peuvent se poser quant à l'intérêt de la chromatographie des porphyrines fécales.

Les résultats ont été transcrits sur des tableaux.

Tout d'abord il nous est apparu assez nettement d'après nos résultats que l'excrétion des coproporphyrines et des protoporphyrines variait en quelque sorte en sens inverse selon que l'on étudie les P.C.T. ou les porphyries mixtes. C'est ce que nous avons tenté de faire ressortir dans le tableau n° 2.

De ce tableau on peut dégager plusieurs points :

- Chaque type de porphyrie se regroupe dans un coin assez caractéristique du tableau :

. Les P.C.T. sont ainsi nettement regroupées dans le coin inférieur gauche qui correspond aux protoporphyrines très basses, associées à des coproporphyrines assez basses également puisque toujours inférieures à 140 γ /gramme de selles sèches.

Dans 23 cas (sur 25) les protoporphyrines sont inférieures à 20 γ .

Un seul cas est nettement en dehors de ce "peloton" avec des protoporphyrines dépassant les 100 γ . Ce cas est celui de Monsieur A., âgé de 63 ans à l'époque de la consultation en octobre 1974. Cet homme ne présentait aucun antécédent familial de porphyrie.

Ses antécédents personnels se résument principalement en

- . deux interventions pour hernies inguinales
- . une tuberculose et surtout un éthylisme avec cirrhose décompensée.

La P.C.T. ne faisait aucun doute, le tableau clinique cutané étant tout à fait évocateur, sans manifestations pouvant faire envisager une porphyrie mixte.

Le taux élevé des porphyrines fécales (associé à un taux faible dans les urines des coprop. et des urop.) pourrait peut-être s'expliquer par l'atteinte hépatique très importante chez cet homme.

Ce point fait en quelque sorte charnière entre le bloc des P.C.T. et celui des porphyries mixtes.

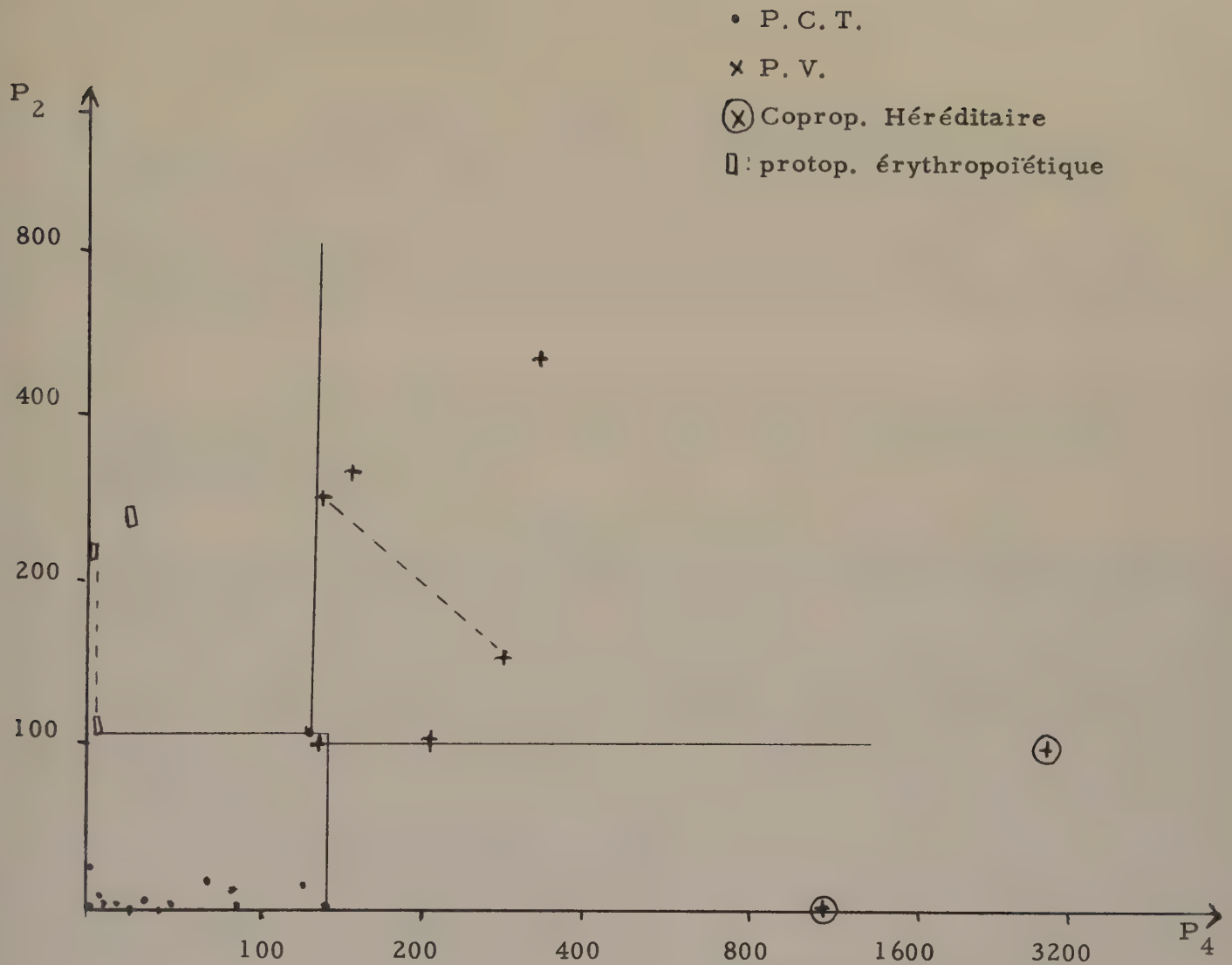


Tableau n° 2

Excrétion dans les fécès des coprop. et des protop. dans les différents
types de porphyries
 (formes patentes exclusivement)

. Les porphyries mixtes :

Deux catégories ressortent assez nettement du tableau :

- Tout d'abord les Porphyries Variegata (P. V.) :

Là également, un point, légèrement en dehors, fait charnière (avec celui dont nous venons de parler) entre P. V. et P. C. T. . Le diagnostic de P. V. dans le cas de cette jeune fille ne faisait aucun doute. Mademoiselle D., âgée de 23 ans, avait présenté des épisodes d'éruptions bulleuses avec céphalées intenses, à la suite de prise d'oestro-progestatifs, d'Aspegic et d'Optalidon ; la chromatographie urinaire n'était pas celle d'une P. C. T.

- Deux points sont nettement en dehors, situés au niveau des valeurs très élevées des coprop. (avec des protop. nulles ou moyennes). On peut pratiquement affirmer sur la vue de ce tableau qu'il s'agit de coproporphyrines héréditaires.

. Quant aux protoporphyrines érythropoïétiques, elles sont également situées dans un coin différent (protop. et coprop. moyennement élevées).

Nous allons maintenant voir catégorie par catégorie les porphyries, en nous aidant de ce précédent schéma ainsi que des tableaux 3 et 3 bis.

1) Porphyrie cutanée tardive

a - En moyenne

- L'élimination des coprop. prédomine : près de 40 % des porphyrines totales sont des coprop. . Quant aux autres porphyrines, aucune n'est éliminée de manière préférentielle ; la répartition est régulière.

- La valeur moyenne des coprop. tourne autour de 60 γ /gr. de selles sèches (la quantité maximum de P_4 excrétée étant de 130 γ dans un cas).

- Ce sont les protop. dont la valeur est la plus faible (en moyenne 14 γ environ).

b - Variations

1 - Il existe naturellement des variations individuelles et en fait la porphyrine prédominante dans les fèces n'est pas toujours la coproporphyrine.

Considérant les huit chromatographies dont les valeurs sont nettement pathologiques, nous obtenons les résultats suivants :

- 5 cas où les coprop. sont les plus élevées

$$P_4 > P_7 > P_6 > P_5 > P_8 > P_2$$

$$P_4 > P_7 > P_5 > P_6 > P_8 > P_2$$

$$P_4 > P_6 > P_8 = P_7 > P_5 > P_2$$

$$P_4 > P_2 > P_8 = P_7 = P_6 = P_5 = 0$$

$$P_4 > P_2 > P_6 > P_5 > P_6 = P_7$$

- les 3 autres cas montrent des éliminations dans les fèces variables :

$$P_6 > P_4 > P_5 > P_8 > P_7 > P_2$$

$$P_5 > P_8 > P_6 > P_4 > P_7 > P_2$$

$$P_8 > P_6 > P_5 > P_4 > P_7 > P_2$$

Pour les six autres chromatographies dans lesquelles l'élimination des porphyrines est faible, rien de caractéristique ne ressort vraiment mais on peut constater en comparant avec les sujets témoins une certaine différence dans l'élimination.

Ainsi dans 5 cas sur 6 une petite quantité d'uroporphyrine variant de 2 à 28 γ est retrouvée. Parfois également on trouve de très faibles quantités d'une autre porphyrine intermédiaire.

Dans un seul cas, la protoporphyrine dépasse les 30 γ .

2 - Par contre, dans presque tous les cas (6 cas sur 8), la valeur de la protop. est la moins élevée.

Elle ne dépasse de toute façon 30 γ /gr. de selles sèches que dans un seul cas, celui dont nous avons parlé au chapitre précédent et dont le point représentatif ressortait nettement par rapport aux autres. Mais même dans ce cas précis, l'excrétion de la protoporphyrine n'est pas prédominante, bien que dépassant les 100 γ .

3 - Les porphyrines heptacarboxylées ne sont également jamais éliminées de manière très importante. Cela s'explique naturellement par l'élimination préférentielle et élevée des P_7 dans les urines, point important pour le diagnostic de P. C. T.

c - Une troisième conclusion peut encore être tirée sur la vue de ces résultats :

dans notre étude, le total des valeurs des coprop. et des protop. est inférieur à 150 ‰ ce qui est un point tout à fait classique

$$P_4 + P_2 < 150 ‰ .$$

Un seul cas fait exception, toujours le même où $P_4 + P_2 = 233 ‰$.

2) Porphyries mixtes

Deux groupes ressortent nettement du tableau n° 2, ainsi que nous l'avons déjà signalé.

a - Porphyries variegata

1 - Les atteintes cliniques.

Cinq malades étaient donc atteints de cette forme de porphyrie et il ressort plusieurs points très importants :

1a . En moyenne, nous voyons d'après le tableau n° 3 que l'élimination prépondérante, bien que de manière très discrète, dans les féces, est celle des protop. suivie de très près par les coprop.

$$P_2 > P_4 \quad \text{avec} \quad \begin{aligned} P_4 &= 43,7 \% \\ P_2 &= 44,3 \% \end{aligned}$$

$$\text{et} \quad P_2 + P_4 \simeq 90 \, \%.$$

Les autres porphyrines sont toutes éliminées de manière à peu près équivalente pour chacune et dans une proportion très faible.

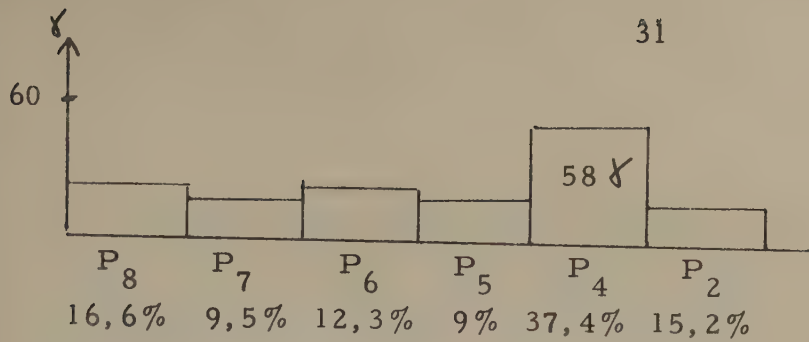
. Les valeurs moyennes de ces porphyrines sont plus importantes, plus élevées que dans la P. C. T. . En effet, pour les coprop. l'excrétion moyenne dans les féces tourne aux alentours de 200 ‰. Quant aux protop. elles sont nettement les plus élevées (moyenne = 250 ‰).

2a . Là également, les variations individuelles sont parfois importantes et intéressantes surtout.

Ainsi, considérant les 6 chromatographies dont nous disposons, nous obtenons les résultats suivants :

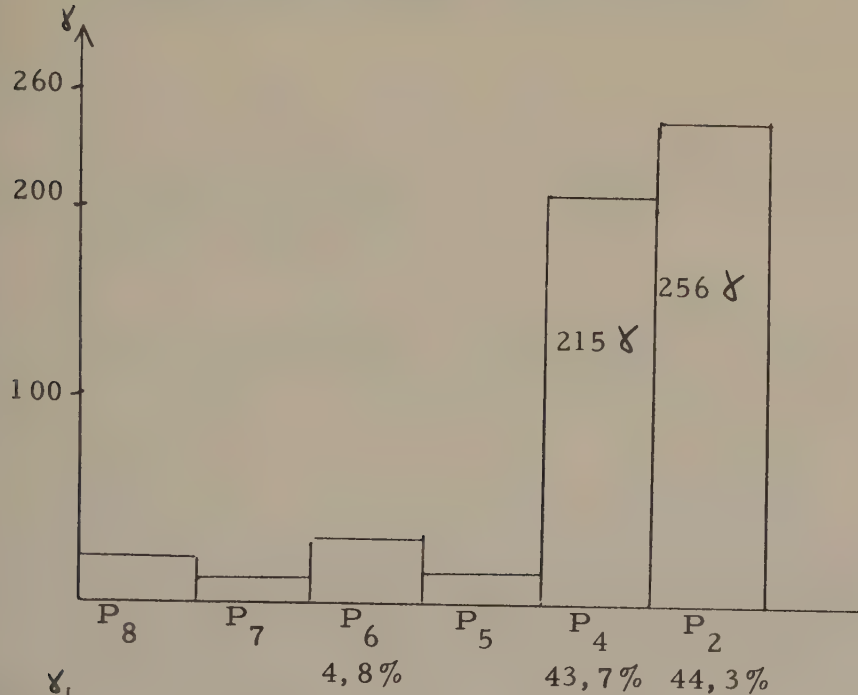
$$P_4 > P_2 \quad \text{dans 3 cas}$$

$$P_2 > P_4 \quad \text{dans 3 cas.}$$

I - PCT

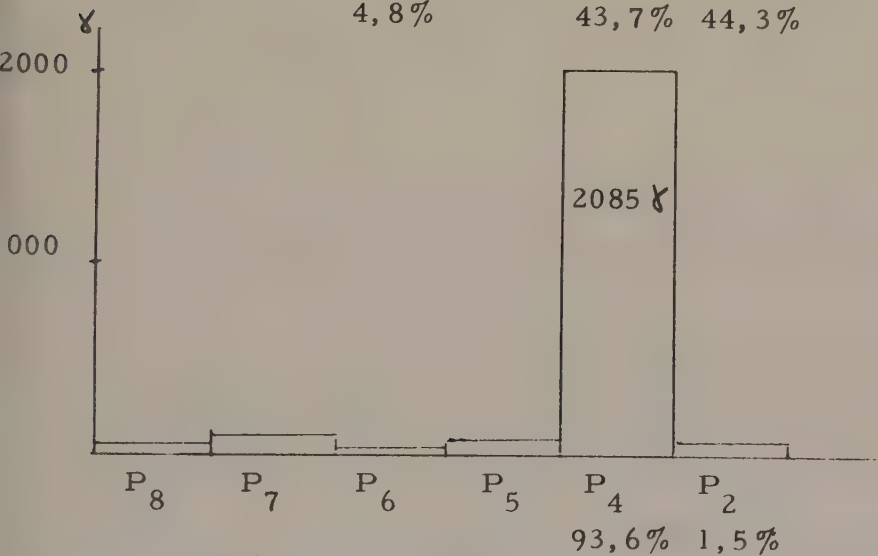
14 chromatographies
(14 patients)

Les 11 chromatographies
négatives n'ont pas été
comptées.

II - P. Mixtes

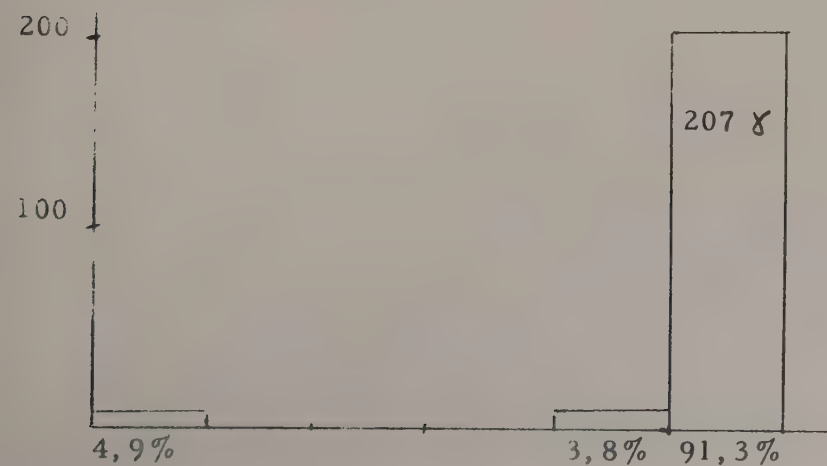
P. Variegata

étude de 6 chromatographies
(5 malades)



coproporphyrinémie héréditaire

2 chromatographies
(2 malades)

III - Protoporphyries
érythropoïétiques

3 chromatographies
(2 malades)

TABLEAU N° 3

1) Formes cliniques

Ces résultats sont tout à fait notables puisque bien différents de ce qui est dit classiquement (EALLES). Le diagnostic, d'après les différents travaux et publications antérieurs, repose en effet sur l'élévation des porphyrines fécales, tant en phase de latence qu'en période aiguë, avec prédominance de la protoporphyrine sur la coprop. et un rapport $\frac{P_2}{P_4}$ supérieur à 1.

Dans notre étude, dans 50 % des cas, c'est donc l'inverse qui se produit avec les coprop. plus élevées que les protop. Mais il faut bien dire que les valeurs de ces deux types de porphyrines restent malgré tout bien proches dans tous ces cas.

Pour l'une des cinq malades, qui a subi 2 chromatographies à deux années d'intervalle, les résultats de celles-ci sont précisément l'expression de ce qui vient d'être signalé avec

$$\text{en 1975} \quad P_2 > P_4$$

$$\text{en 1977} \quad P_4 > P_2 .$$

Donc, si en moyenne l'élimination des protop. est un peu supérieure à celle des coprop. en fait ces dernières peuvent très bien être prédominantes sans que le diagnostic soit remis en cause. Plusieurs points permettent quelquefois d'affirmer, ou de confirmer, un diagnostic parfois un peu délicat.

3a . Les protoporphyrines ont une valeur toujours élevée, supérieure à 100 γ par gramme de selles sèches et chose très importante, leur valeur reste élevée même en période de rémission, ce qui peut donc être un très bon élément de diagnostic.

Lorsque le diagnostic est délicat, avec une PCT ou même une PAI, l'élévation des P_2 persistante et importante peut pratiquement affirmer ce diagnostic de porphyrie mixte.

4a . Ce qui ressort principalement du tableau, c'est l'élimination presque exclusive des protop. et des coprop. qui en moyenne est de 88 % et de toute manière, dans notre étude, supérieure à 78 %.

Les résultats sont en effet les suivants :

$$\begin{aligned} \cdot \text{ 1er cas} \quad & P_2 > P_4 \text{ avec } P_2 + P_4 = 84 \% \\ \cdot \text{ 2e cas} \quad & P_2 > P_4 \text{ avec } P_2 + P_4 = 78 \% \\ \cdot \text{ 3e cas} \quad & \left\{ \begin{array}{l} P_2 > P_4 \text{ avec } P_2 + P_4 = 85,5 \% \\ P_4 > P_2 \text{ avec } P_2 + P_4 = 100 \% \end{array} \right. \end{aligned}$$

- . 4e cas $P_4 > P_2$ avec $P_4 + P_2 = 81,2\%$
 . 5e cas $P_4 > P_2$ avec $P_4 + P_2 = 100\%$

. Si l'on prend en considération, non plus les pourcentages, mais les valeurs des porphyrines, le total des protop. et des coprop. est dans nos cas toujours supérieur à 230 γ .

Il n'est supérieur à 500 γ que dans un seul cas mais pour 2 malades (ou 3 chromatographies), l'élimination des porphyrines s'en approche bien.

5a . Porphyrines totales.

Dans l'étude quantitative nous avons parlé uniquement des porphyrines mixtes, sans différencier alors porphyrie variegata de coproporphyrine héréditaire. En fait, grâce à l'étude qualitative qui nous a permis de faire cette séparation, nous pouvons voir que l'étude quantitative était tout à fait insuffisante puisque les porphyrines totales dans la porphyrie variegata varient de 250 à 1050 γ environ, et ne permettait pas de faire un diagnostic précis.

La moitié des chromatographies donnent une élimination des porphyrines fécales supérieure à 500 γ /gr. de selles desséchées mais nous n'obtenons pas malgré tout les 90 % qu'EALES avait obtenu dans son étude personnelle.

2 - Les études familiales.

Pour 3 des cinq malades, une enquête familiale a pu être effectuée. Parmi les collatéraux ou ascendants de deux de ces malades, aucune atteinte biologique n'a pu être découverte et les chromatographies des porphyrines étaient normales.

Par contre l'étude a pu être faite chez les parents ainsi que pour les cinq frères et soeurs de la troisième malade et a donné quelques résultats.

	P ₈	P ₇	P ₆	P ₅	P ₄	P ₂	P. totales
père	0	0	0	0	0	0	
mère	13	0	0	0	20	14	47
Isa. ♀	61	0	25	0	67	48	201
Fr. ♂	0	0	0	0	0	0	
Ch. ♂	0	0	0	0	0	0	
Na. ♀	39	0	13	0	42	13	107
Al. ♂	163	0	31	15	54	60	323

Toutes ces personnes étaient en bonne santé et absolument indemnes de lésion dermatologique.

Du côté paternel et du côté maternel a été retrouvée la même ascendance hollandaise.

Les analyses pratiquées chez les parents n'ont pas permis de découvrir le porteur de la tare.

Parmi les cinq collatéraux de la malade, deux sont, semble-t-il, indemnes avec des recherches négatives dans les selles.

Restent trois autres frères et soeurs pour lesquels les chromatographies dans les fèces se sont révélées pathologiques.

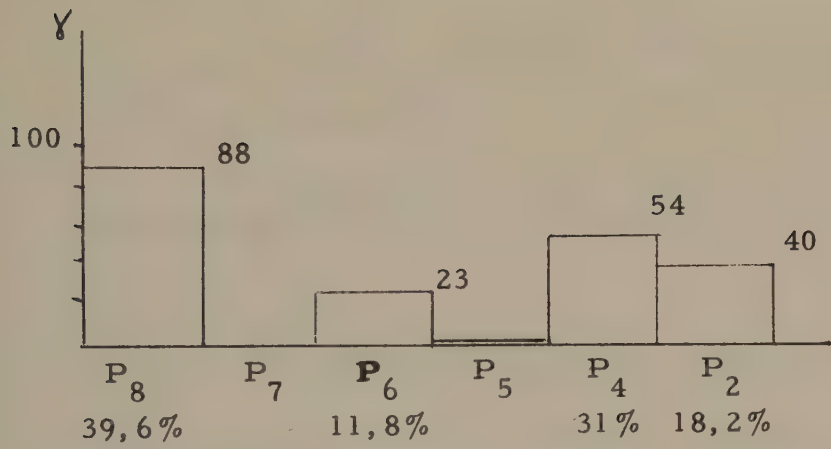
Pour deux d'entre eux, les porphyrines fécales dépassent 200 γ et on peut les considérer comme atteints.

Quant au dernier il n'a pas été possible de se prononcer avec certitude, les porphyrines fécales étant à 107 γ seulement.

L'étude qualitative de ces trois chromatographies (tableau 3 bis) montre des résultats fort différents de ce qui est trouvé pour les malades cliniquement atteints :

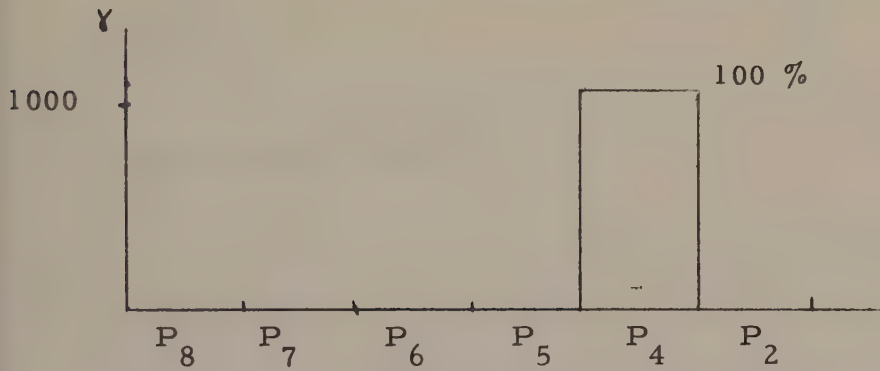
- ainsi on ne retrouve pas la prédominance de l'élimination des protoporphyrines. L'excrétion se fait de manière beaucoup plus dispersée entre les urop., les coprop. et les protop. principalement, mais pas uniquement.





P. Variegata

3 chromatographies



Coprop. héréditaire

1 chromatographie

Tableau n° 3 bis

Formes latentes

- pour les trois cas, la somme $P_4 + P_2$ est inférieure à 60% du total.

- enfin, les valeurs moyennes des porphyrines, en particulier des protop., ne sont guère élevées (par rapport aux résultats des malades atteints cliniquement).

Quant au total coprop. -protop., il n'est jamais aussi élevé que chez les malades, n'atteignant jamais dans notre étude 120 γ /gr.

b - Coproporphyrines héréditaires

Nous avons classé dans cette catégorie deux malades, atteints cliniquement, et ceci sur la vue des chromatographies des porphyrines urinaires mais surtout fécales qui étaient absolument en faveur de ce diagnostic bien que pour l'un des malades, l'aspect clinique pouvait poser quelques problèmes.

Nous présenterons brièvement ces deux observations car elles sont très intéressantes.

1) 1ère observation

Mademoiselle C. Simone est née en 1958.

- antécédents héréditaires : père et mère sont en bonne santé et ne présentent pas de signes cliniques de porphyrie.

- antécédents personnels : on ne retrouve rien de très important. Ses premières règles surviennent à 15 ans et demi. On n'a pas de notion de contraception orale.

- histoire de la maladie :

En août 1975 cette jeune fille, atteinte d'une mycose est traitée par de la FULCINE.

Le 25 août 1975 elle est prise de douleurs abdominales diffuses associées à des douleurs des fosses lombaires, des nausées et des vomissements. Ses urines sont foncées.

Le 27 août survient alors une douleur aiguë de la fosse iliaque droite, un arrêt des matières et des gaz. Le toucher rectal est négatif.

Elle est hospitalisée d'urgence le 28 août au pavillon A de l'hôpital Edouard-Herriot. Un toucher vaginal ramène du sang.

A l'intervention, on découvre un appendice sain mais la trompe droite est inflammatoire.

L'anesthésie (phénobarbital - allopentane ...) s'est très bien passée. A la suite de l'intervention, les urines sont très foncées.

- chromatographie des porphyrines

Le 10 septembre 1975 (soit quand même 12 jours après l'intervention) les chromatographies sont les suivantes :

	PBG	ALA	P ₈	P ₇	P ₆	P ₅	P ₄	P ₂
Urines	14,5	2,3	<u>609</u>	294	0	281	<u>2734</u>	
Fécès			80	80	20	160	<u>3008</u>	100

Nous constatons donc une très forte élimination des coprop.

- enquête familiale

Celle-ci a été effectuée chez les ascendants de cette jeune fille.

. Le père est indemne : les valeurs des porphyrines sont normales dans les urines et la chromatographie dans les fèces montre une recherche négative.

. par contre la mère est porteuse de la tare :

<u>Urines</u> :	PBG	ALA	COPRO.	URO.
	2	8,3	22,5	0

Fèces : la chromatographie est tout à fait caractéristique d'une coproporphyrurie héréditaire, avec une élimination EXCLUSIVE des coproporphyrines à 1118 γ .

2) 2ème observation

Monsieur M. Pierre est né en 1947. Il est suivi depuis 1969.

- antécédents héréditaires :

Son père est en bonne santé.

Sa mère est atteinte de porphyrie associant des crises douloureuses abdominales aiguës et des poussées bulleuses du dos des mains et du visage principalement l'été.

- antécédents personnels :

On ne retrouve que peu de choses : ils se limitent à une intolérance aux graisses et surtout à un tempérament irritable, voire même agressif.

- histoire de la maladie :

Elle commence en 1968 à l'âge de 21 ans, par une fragilité cutanée et l'apparition de poussées bulleuses aggravées par l'exposition au soleil.

On note plus tard d'autres signes cutanés à type de microkystes, d'une hypertrichose malaire et d'une élastose débutante.

L'examen clinique est pratiquement normal excepté une hépatomégalie à deux travers de doigt et une rate perçue.

- Examens para-cliniques :

A part des tests hépatiques discrètement perturbés, le bilan est sensiblement normal.

Divers dosages des porphyrines, urinaires et fécaux, furent effectués depuis 1970. Dans les urines les précurseurs étaient augmentés et l'élimination des coprop. prédominante.

Il est intéressant de noter les résultats des porphyrines fécales :

	URO.	COPRO.	PROTO.
3.12.1970	54	361	193
25. 2.1971	<u>336</u>	245	135
20. 7.1972	< 10	<u>805</u>	215

Nous voyons que l'élimination des coproporphyrines fécales n'était pas toujours prédominante, et si le diagnostic de porphyrie mixte était nécessaire, celui de coproporphyrine héréditaire était beaucoup moins évident.

En septembre 1975, une chromatographie des porphyrines fécales montrant une élimination EXCLUSIVE des coproporphyrines à 1162 χ amène alors à ce diagnostic.

Le cas de Monsieur M. est original en ce sens qu'il n'a jamais présenté que des signes cutanés isolés, ce qui est exceptionnel dans ce type de porphyrie (CCNNON). Mais la chromatographie des porphyrines fécales oblige à cette classification.

3) Résultats

Donc, à partir de ces trois chromatographies de coproporphyrine héréditaire, nous pouvons mettre en évidence :

- une élimination pratiquement exclusive des coproporphyrines fécales avec près de 95 % pour les malades et 100 % pour la forme latente.

- les valeurs moyennes de ces coprop. sont de loin les plus élevées dans cette catégorie de porphyrie puisque proches de 2000 γ par gramme de selles desséchées (ce qui nous oblige dans le tableau 3 à changer l'échelle en ordonnée).

- la seule étude quantitative ne nous permettait pas de faire le diagnostic entre un cas de porphyrie variegata (porphyrines totales à 1056 γ) et les coproporphyrines héréditaires.

L'étude qualitative nous permet donc de faire le diagnostic exact puisque c'est dans la coproporphyrine héréditaire seulement que des valeurs aussi élevées de coproporphyrines (1000 à 2000 γ) peuvent être retrouvées.

La chromatographie urinaire aide aussi au diagnostic dans la mesure où l'élimination des P_4 et P_8 se fait à des taux plus élevés que dans la P. V.

3) Protoporphyrine érythropoïétique

Les deux chromatographies des deux jeunes malades nous indiquent des résultats assez concordants :

$$\begin{aligned} & \cdot P_2 > > > P_4 \\ & \cdot P_2 > P_4 > P_8 \\ & \cdot P_2 \end{aligned}$$

1 - L'élimination des protoporphyrines est prépondérante de façon très nette, et dans notre étude, plus nette que dans la porphyrie variegata, avec un rapport $\frac{P_2}{P_4}$ très supérieur à 1.

2 - L'élimination $P_2 + P_4$ est proche de 100 %. En moyenne ille est de 95 % exactement (avec 91 % de P_2).

3 - Dans les trois cas, l'élimination est absolument nulle au niveau des porphyrines pentz, hexz et heptacarboxylées.

4) Porphyrie aiguë intermittente

Nous ne pouvons malheureusement guère tirer de conclusion de la seule observation d'atteinte clinique dont nous disposons.

On peut toutefois noter que dans ce cas, le diagnostic avec la porphyrie variegata ne pouvait guère se faire sur la seule étude quantitative de la chromatographie des porphyrines fécales (porphyrines totales supérieures à 500 γ). Par contre, l'élimination presque exclusive des coproporphyrines associée à une très faible élimination des protop., pouvait faire évoquer non plus une P. V. mais une coprop. héréditaire. En fait, dans les urines, l'élimination des P_4 n'était pas très importante et surtout le diagnostic de la P.A.I. est fait sur la diminution de l'uroporphyrinogène I synthétase.

Pour l'enquête familiale, il n'y a rien à noter de particulier : les deux enfants présentaient des chromatographies normales alors que l'un d'eux est sans doute atteint biologiquement puisqu'il présente aussi une diminution de l'enzyme.

C) COMMENTAIRES

1) Intérêt de la chromatographie des porphyrines fécales pour le diagnostic des porphyries : diagnostic différentiel.

a - P. C. T. - P. V.

C'est entre ces deux formes de porphyries qu'il nous semble important de faire le diagnostic de façon très précoce et de manière exacte. Bien souvent les symptômes sont les mêmes. Nous avons vu dans notre étude que précisément trois parmi les porphyries variegata ne présentaient que des signes cutanés. Or le pronostic est très différent puisque la mise en évidence d'une P. V. conduit à la suppression d'un certain nombre de médicaments déclenchant des crises douloureuses abdominales, pour lesquelles le pronostic vital est parfois en jeu.

C'est dans cette optique que les chromatographies des porphyrines prennent tout leur intérêt et si pour la P. C. T., la chromatographie urinaire est souvent caractéristique, par contre pour la P. V. la plus importante est certainement la chromatographie des porphyrines fécales qui permet un diagnostic dans tous les cas.

b - P. V. - Coproporphyririe héréditaire

A l'intérieur même du groupe que nous avons appelé porphyries mixtes, nous pouvons différencier les porphyries variegata des coproporphyrines héréditaires. La distinction est très récente et n'est permise pratiquement que depuis l'utilisation presque systématique des chromatographies. En fait, le diagnostic se fait pratiquement uniquement sur les chromatographies des porphyrines fécales, car bien que l'élimination des coproporphyrines au niveau urinaire se fasse également de façon élevée pour les coprop. héréditaires, la différence entre les P. V. et les coprop. héréditaires est beaucoup moins sensible au niveau urinaire que fécal.

Il est bien certain que l'intérêt d'un diagnostic exact est beaucoup moins primordial, tout au moins pour le malade, puisque dans l'un ou l'autre cas on lui conseillera les mêmes mesures afin d'éviter des crises abdominales. Mais dans les années à venir, l'intérêt sera sans doute supérieur quand le déficit enzymatique sera connu de manière précise dans les deux cas, et quand donc par conséquence on connaîtra éventuellement un traitement substitutif différent dans les deux formes de porphyries et efficace.

c - P.A.I. - Porphyries mixtes

De même le diagnostic différentiel entre ces deux formes de porphyries n'est pas toujours très net. L'absence de signes cutanés ne permet pas d'éliminer une porphyrie mixte et ce ne peut être que la biologie qui permettra d'affirmer le diagnostic.

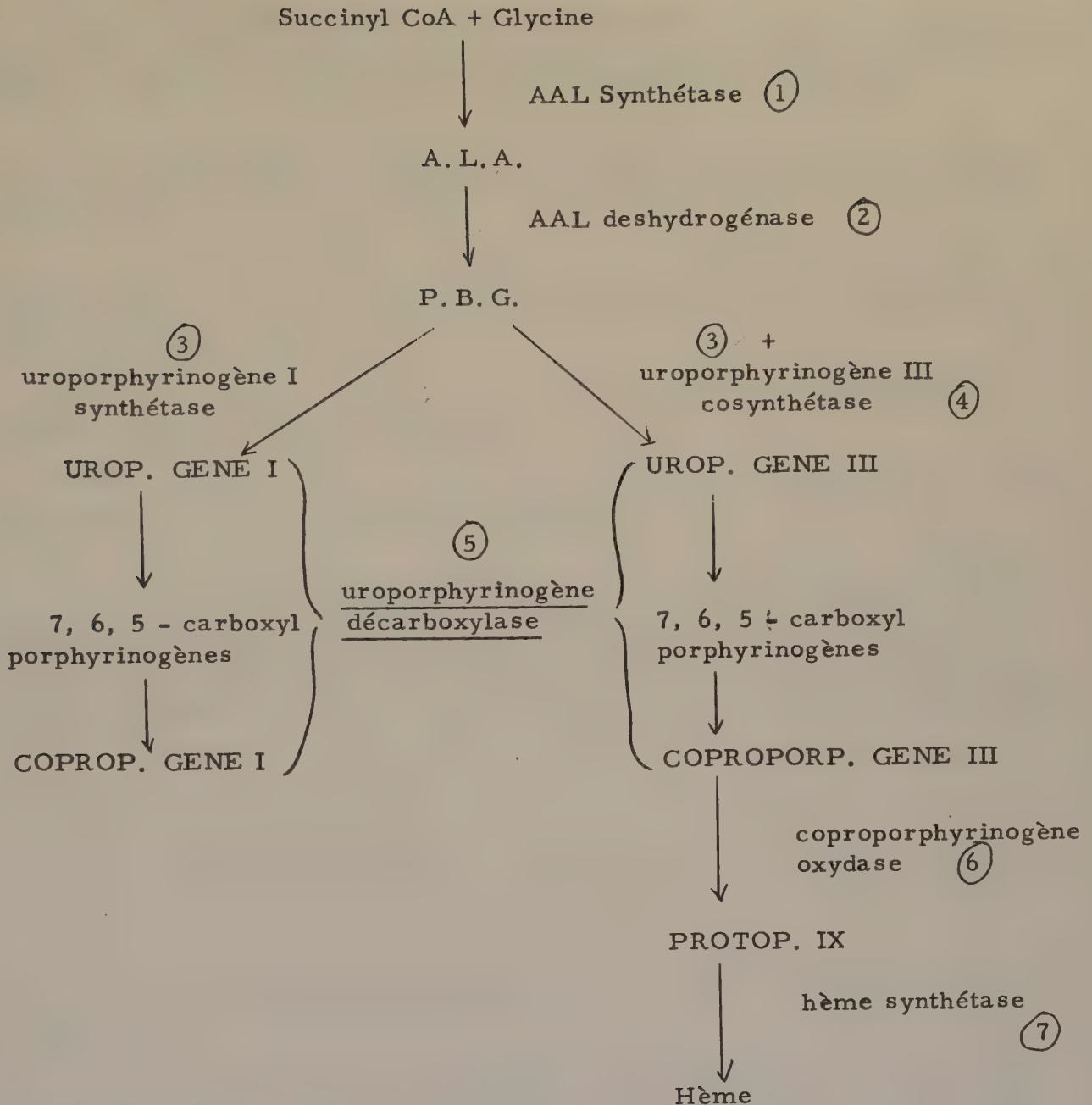
En période aiguë, les anomalies urinaires sont très proches pour les trois types de porphyrines et ce sont donc les chromatographies des porphyrines fécales qui permettront le diagnostic.

Le diagnostic ne présente, de même, pas un intérêt évident pour les malades actuellement, les traitements n'étant guère efficaces et identiques de toute manière. Mais les déficits enzymatiques ont récemment été démontrés pour plusieurs types de porphyrie et on commence donc à entrevoir la possibilité de mise en place d'un traitement substitutif. Dans une telle éventualité, la chromatographie des porphyrines, principalement fécales, permettant dans la majorité des cas un diagnostic exact, semble devoir être développée.

d - Les déficits enzymatiques (21-32-33)

Revenons de manière un peu plus détaillée sur les déficits enzymatiques actuellement mis en évidence (voir tableau n° 4).

- La P.A.I. est due à un déficit en uroporphyrinogène I synthétase, ce qui explique bien l'élimination accrue des précurseurs.



Rappel de la bioxythèse de l'hème avec la mise en évidence
des enzymes nécessaires

(d'après KUSHNER, Journ. of Clin. Invest., vol. 58, nov. 1976, 1089-1097).

Figure 4

On peut noter que, dans cette porphyrie, la chromatographie des porphyrines fécales n'est pas forcément très caractéristique et le dosage de l'uro. I synthétase érythrocytaire permet d'affirmer le diagnostic.

- La coproporphyririe héréditaire est due à un déficit en coproporphyrinogène oxydase entraînant l'accumulation des coproporphyrines tant dans les selles que dans les urines.

- Pour la P. C. T., il semble que ce soit un déficit en uroporphyrinogène I décarboxylase qui intervienne, expliquant l'accumulation de dérivés heptacarboxyliques.

- La protoporphyririe quant à elle, est due à la diminution de l'hème synthétase (ou ferrochélatase).

Pour l'instant, le déficit enzymatique responsable de la porphyrie variegata n'a pas encore été mis en évidence.

Tous ces dosages enzymatiques ont comme intérêt primordial, la détection des formes latentes, des porteurs asymptomatiques, le plus rapidement possible. Malheureusement, ces dosages sont encore difficiles pour certains d'entre eux. Le deuxième intérêt de connaître ces déficits est aussi la possibilité d'instaurer peut-être dans l'avenir un traitement substitutif.

2) Diagnostic positif

a - Porphyrie cutanée tardive

Nos conclusions au sujet de cette porphyrie sont tout à fait concordantes avec celles de la littérature.

- L'excrétion des porphyrines fécales est basse, ou tout au moins modérée. Elle peut parfois être normale, même en période aiguë. Le taux des porphyrines ne dépasse pas 400 γ et dans 80 % des cas, il est inférieur à 250 γ .

- L'élimination porte en majeure partie sur les coproporphyrines et ce sont les protoporphyrines qui sont les plus basses, dans l'ensemble normales même par rapport aux résultats des sujets témoins. L'élimination des coproporphyrines est donc toujours supérieure à celle des protoporphyrines.

- Les composés intermédiaires sont éliminés de manière également assez importante ; les taux de ces porphyrines (P_7 - P_6 et P_5) sont sensiblement identiques entre eux et surtout sont plus élevés dans ce type de porphyrie que dans les autres types.

EALES et coll. ont montré chez 35 % de leurs malades une présence prédominante dans les fécès du dérivé pentacarboxylique. Notre étude donne des résultats un peu divergents mais ce n'est pas très important.

Aucune étude familiale n'a malheureusement été effectuée.

1 b)- Porphyries mixtes

a) Formes symptomatiques.

- La distinction porphyrie variegata - coproporphyrine héréditaire ne peut être affirmée que par l'étude qualitative des porphyrines fécales. Dans un premier temps, l'étude quantitative oriente vers un diagnostic imprécis de porphyrie dite mixte, puis examinant de façon attentive la chromatographie on peut envisager le diagnostic.

- Porphyrie variegata :

Les porphyrines sont relativement élevées.

Les porphyrines totales sont supérieures à 250 γ dans 83 % des cas mais supérieures à 500 γ dans seulement la moitié des cas.

Ces résultats sont un peu moins élevés que ceux signalés par EALES et coll. Ces derniers, dans leur étude, trouvent 90 % des malades ayant une excrétion supérieure à 500 % (contre 50 % dans notre étude).

L'élimination porte en majeure partie sur les coproporphyrines et les protoporphyrines. Les protoporphyrines ne sont prépondérantes que dans la moitié des cas et les taux des P_2 et des P_4 sont très proches l'un de l'autre.

Mais par rapport aux autres porphyries, c'est le seul type où la protoporphyrine a une valeur aussi élevée, toujours anormale et supérieure à 100 γ , même en période de rémission.

Le total $P_2 + P_4$ est proche de 90 % et supérieur à 80 %.

- Coproporphyrine héréditaire :

. Ainsi que nous venons de le dire, le diagnostic ne peut être affirmé que par l'étude qualitative des porphyrines fécales car dans certains cas de porphyrie variegata le taux des porphyrines est proche de celui des coproporphyrines.

Mais dans la majorité des cas, il semble malgré tout que dans cette catégorie de porphyrie les taux des porphyrines sont plus élevés que dans la variegata.

. Elle se distingue surtout des autres types de porphyrie par l'élimination pratiquement exclusive (en tout cas supérieure à 90 %) des coproporphyrines dans les fèces et qui plus est cette excrétion se fait à des taux très élevés. Dans notre étude, les P_4 sont toujours supérieures à 1000 γ /gr. de selles sèches, ce qui ne se voit que dans cette porphyrie.

. Les protoporphyrines sont éliminées à des taux modérés ou normaux contrairement aux P. V.

C'est sur l'association de ces signes chromatographiques que nous avons classé le cas de Mr M. dans cette catégorie. Cet homme n'avait présenté comme signes cliniques que des signes cutanés, ce qui a été déjà décrit (CONNON - LANGLOF), mais qui n'est pas très classique. Dans un tel cas, quand le diagnostic est un peu délicat, il peut être possible d'effectuer un dosage enzymatique dans les globules rouges ou les lymphocytes.

Ainsi que nous l'avons déjà vu, le déficit en coproporphyrinogène oxydase mis en évidence depuis peu de temps pourra permettre d'affirmer ou d'infirmer des diagnostics délicats et surtout peut-être de mettre à jour les formes asymptomatiques.

2 b) Formes latentes.

- La porphyrie variegata.

. Le caractère familial de la P. V. est apparu très rapidement. Une étude généalogique complète effectuée par DEAN et BARNES a révélé sa transmission selon le mode autosomal dominant. D'autres études ont aussi montré que environ 52 % des enfants héritent de la tare (étude sur peu de cas). La pénétration du gène étant forte, la tare ne saute pas de génération.

. Dans notre étude le cas de Mlle D. Corinne est intéressant car précisément dans son cas, l'enquête familiale n'a pas permis de découvrir le porteur de la tare parmi les parents ; ce point montre donc les limites des chromatographies fécales dans le diagnostic des formes asymptomatiques. Il est possible que cette insuffisance de la chromatographie des porphyrines fécales pour le dépistage des porteurs sains soit due à une élimination des porphyrines fécales intermittente chez ceux-ci. Il faudrait alors pouvoir répéter plusieurs fois ces examens.

. De même parmi les frères et soeurs, les résultats des chromatographies ne permettent pas un dépistage extrêmement sûr. La comparaison avec les résultats chromatographiques des sujets témoins montre quand même pour deux des enfants des taux anormaux, et pour une autre des valeurs limites. Mais aucun trait caractéristique ne ressort.

Dans cette famille, malgré tout, sur les six enfants, trois sont certainement atteints et peut-être quatre.

Pour ce type de porphyrie, on peut considérer qu'il n'existe actuellement aucune méthode sûre de dépistage des formes latentes. Aucun déficit enzymatique certain n'a pu encore être prouvé.

- La coproporphyririe héréditaire.

Dans notre étude, nous n'avions qu'un cas de forme latente, cas absolument sans problème puisque l'élimination des coproporphyrines y est exclusive.

Là par contre, la possibilité du dosage enzymatique dans les globules rouges ou les lymphocytes montrant la diminution en coproporphynogène oxydase permet de toute manière le diagnostic.

C) Porphyries aiguës intermittentes.

Notre seul cas de P.A.I. est celui d'une jeune femme chez laquelle les chromatographies ont été faites en période de rémission. La chromatographie des porphyrines urinaires ne montre pas d'élévation des précurseurs mais une augmentation modérée des coproporphyrines. Par contre en opposition à ce qui est classiquement observé (WETTERBERG, HAEGER-ARONSEN) les porphyrines fécales sont élevées, supérieures à 500 χ .

En fait en 1963 EALES et coll. ont décrit également un malade dont les porphyrines fécales étaient aussi élevées que celles trouvées dans les P. V.

Ceci montre que finalement le diagnostic différentiel des deux groupes n'est pas forcément évident malgré la chromatographie. L'identification des isomères est alors d'un appoint important car dans la P.A.I. les diverses porphyrines excrétées dans les urines et les fèces sont exclusivement du type III.

En fait dans la P.A.I. la protoporphyrine n'est pas augmentée ou de façon modérée, contrairement à ce qui est vu dans la P. V. . Le diagnostic le plus difficile serait donc entre P.A.I. et coproporphyririe héréditaire (en effet dans notre cas, l'élimination se fait à 95 % sur les coprop.). Il semble quand même que les valeurs des porphyrines soient moins élevées dans la P.A.I. que dans la coprop.

La chromatographie des porphyrines dans les fèces est malgré tout insuffisante en particulier pour le dépistage des formes asymptomatiques ainsi que nous le montrent les résultats négatifs pour les deux enfants de

cette femme dont l'un s'est révélé être en définitive atteint. Le diagnostic est assuré dans la P.A.I. par le dosage de l'uroporphyrinogène I synthétase érythrocytaire, très diminué dans le cas d'une atteinte.

D) Protoporphyrine érythropoïétique

Les trois résultats de nos chromatographies concordent et montrent une élévation assez importante des protoporphyrines.

La chromatographie des porphyrines fécales ne consiste qu'en un examen d'appoint car le diagnostic se fait, en période de manifestations cliniques, sur l'élévation des protoporphyrines érythrocytaires.

Et chez le porteur sain le test le plus fidèle de détection de la tare est la recherche de la fluorescence des hématies.

Le déficit enzymatique semble porter ici sur la ferrochelatase (ou hème synthétase).

CONCLUSIONS

Nous rapportons l'étude chromatographique des porphyrines fécales chez 44 personnes : 30 patients porteurs de porphyrie et 14 de leurs parents. Au total 51 chromatographies ont été réalisées selon une technique originale au Laboratoire de Biochimie de l'Hôpital de l'Antiquaille.

1) Chez 20 sujets porteurs de Porphyrie Cutanée Tardive, 25 chromatographies ont été réalisées ; 18 fois l'élimination ne dépasse pas 90 γ /gr. de poids sec ; dans 7 cas elle est comprise entre 100 et 360 γ ; elle porte habituellement de façon préférentielle sur les coproporphyrines.

2) Chez 5 sujets porteurs de Porphyrie Variegata (6 chromatographies) l'élimination varie de 250 à 1050 γ ; l'ensemble protoporphyrine + coproporphyrine représente 90 % des porphyrines totales. La chromatographie des porphyrines fécales ne permet pas toujours de dépister les porteurs sains (10 chromatographies).

3) Dans 2 cas de coproporphyrine héréditaire, les porphyrines fécales dépassent 1000 γ et sont constituées de façon presque exclusive de coproporphyrine (96 %). L'enquête familiale effectuée dans 1 cas a permis de dépister une forme latente chez un ascendant.

4) Dans 2 cas de Protoporphyrine érythropoïétique, 3 examens montrent des porphyrines fécales variant de 140 à 300 γ avec élimination prédominante des protoporphyrines (91 %).

5) Dans 1 cas de Porphyrie Aiguë Intermittente, les porphyrines fécales sont élevées à 540 γ avec prédominance des coproporphyrines. Les examens pratiqués chez deux descendants dont l'un est porteur de la maladie, sont normaux.

Ces résultats montrent que le diagnostic exact d'une porphyrie nécessite l'étude quantitative et qualitative systématique des porphyrines fécales. Cet examen est par contre souvent en défaut pour le dépistage des formes latentes.

Le Président de la Thèse

Le Directeur l'Unité ALEXIS CARREL

Vu et Permis d'Imprimer
LYON, le 19 OCT, 1977
Le Président de l'Université
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BELCHER-SMITH
Biliary protein-bound porphyrins in porphyria variagata.
Clin. Chim. Acta (1969) 25, 45-52.
- 2 - BELCHER-SMITH
Preliminary studies on bile porphyrins in the quiescent phase of
variagate porphyria.
Clin. Chim. Acta (1969) 23, 241-243.
- 3 - BOUCHERAT M.
Aspects biochimiques de la porphyrie aiguë intermittente.
Lyon Pharmaceutique (1977) 28, 2 - 125-132.
- 4 - BOUCHERAT M.
Contribution à la biochimie analytique des porphyrines humaines.
Thèse LYON 1971.
- 5 - CHU et CHU
Porphyrin patterns in different types of porphyria.
Clin. Chemistry (1967) 13, n° 5, 371-387.
- 6 - CHU et CHU
Rapid thin-layer chromatography of porphyrins and related compounds
and its application to the study of porphyrins.
J. Chromatogr. (1967) 28, 475.
- 7 - COCHRANE et GOLDBERG
A study of faecal porphyrin levels in a large family.
Ann. Hum. Genet., Lon. (1968) 32, 195-208.
- 8 - CONNON J. J. et TURKINGTON V.
Hereditary coproporphyria.
Lancet (1968) 11, 263.
- 9 - CRIPPS et PETERS
Stool porphyrins in acute intermittent and hereditary coproporphyria.
Arch. Neurol. (1970) 23, 80-84.
- 10 - CURTIS et al.
Porphyria cutanea tarda.
Brit. J. of Clin. Pract. (1976) 30, n° 2, 47-48.
- 11 - DE LEO Va et coll.
Erythropoietic protoporphyria. 10 years experience.
Am. J. Med (1976) 60-1, 8-22.
- 12 - DOSS M.
The quantitative separation of porphyrins and protoheminmethyl-esters
by T. L. C.
J. Chrom. (1967) 30, 265.

- 13 - DOSS M.
Analytical and preparative T.C.L. of porphyrin methyl esters.
Z. Klin. Chem. (mai 1970) 8, 197.
- 14 - DOSS et coll.
Quantitative T.L.C. of porphyrins by in situ fluorescence measurements.
J. Chromat. (1971) 63, 113-120.
- 15 - DOWDLE, GOLDWAIN et coll.
The pattern of porphyrin isomer accumulation and excretion in symptomatic porphyria.
Clinical Science (1970) 39, 147-158.
- 16 - EALES et coll.
The place of screening tests and quantitative investigations in the diagnosis of the porphyrias, with particular reference to variegata and symptomatic porphyria.
S.A. Med. Journal (1966) 40, 63-71.
- 17 - ELDER et coll.
The primary enzyme defect in hereditary coproporphyria.
The Lancet (1976) 4, 1217-1219.
- 18 - ELDER G.H.
Differentiation of P.C.T. symptomatica from other types of porphyria by measurement of isocoproporphyria in faeces.
J. Clin. Path. (1975) 28, 601-607.
- 19 - ELDER G.H.
Identification of a group of tetracarboxylate porphyrias, containing one Acetate and Three Propionate B-substituents in faeces from patients with symptomatic cutaneous hepatic porphyria and from rats with porphyria due to hexachlorobenzene.
Biochem. J. (1972) 126, 877-891.
- 20 - ERICKSEN L.
Quantitative analysis of porphyrins isomers by paper chromatography.
Scand. J. Clin. Labo. Invest. (1953) 5, 155.
- 21 - GAJDOS et coll.
Une nouvelle variété de porphyrie : la coproporphyrie héréditaire mixte ou variegata,
Rev. Franç. Etudes Clin. et Biol. (1969) 14, 279-282.
- 22 - GAJDOS A. et M.
Porphyrines et porphyries.
Masson (1969).

- 23 - GAJDOS A.
La nature enzymopathique des porphyries.
Nouvelle Presse Médicale (1976) 5-22, 1417-1422.
- 24 - GERVEZ F.
La porphyrie variegata ou mixte. A propos de 4 observations.
Thèse LYON 1975.
- 25 - GOLDBERG et RIMINGTON
Hereditary coproporphyria.
The Lancet (1967) 1, 632-636.
- 26 - GRANDCHAMP et NORDMANN
Decreased lymphocyte coproporphyrinogen III oxidase activity in hereditary coproporphyria.
Bioch. and Bioph. Research Communications (1977) 74, n°3, 1089-1095.
- 27 - HAEGER-ARONSEN
Various types of porphyria in Sweden.
S.A. Journal of Lab. and Clin. Med. (1963) vol. 9 n° 4, 288-295.
- 28 - HERBERT Freda
Porphyrins excreted in various types of porphyria (with special reference to pseudo-uroporphyrin).
Clin. Chim. Acta (1966) 13, 19-30.
- 29 - HOLTI G., RIMINGTON C., TALE B. et C. et THOMAS G. (1958)
Quart. J. Med., 27, 1.
- 30 - HUNTER et coll.
Hereditary coproporphyria-photosensitivity jaundice and neuro-psychiatric manifestations associated with pregnancy.
Brit. J. Derm. (1971) 84, 301.
- 31 - JAEGER et coll.
La coproporphyrie héréditaire.
Nouvelle Presse Médicale (1975) 4, n° 39, 2783-2788.
- 32 - KAUFMAN L. et MARVER H.
Biochemical defects in two types of human hepatic porphyrias.
New Engl. J. Med. (1970) 283, 954-958.
- 33 - KUSHNER, BARBUTO et coll.
An inherited enzymatic defect in porphyria cutanea tarda. Decreased coproporphyrinogen decarboxylase activity.
The Journ. of Clin. Invest. (1976) 58, 1089-1097.
- 34 - MASCARO-GALY C., MASCARO J.M. et ALBERO F.
Porphyrie érythropoïétique congénitale de Gunther chez une fillette de 8 mois.
Ann. Derm. Venereol. (1977) 104, 32-37.

- 35 - MOORE M.R., THOMPSON et GOLDBERG
Amounts of faecal porphyrin-peptide conjugates in the porphyrias.
Clin. Sci. (1972) 43, 299-302.
- 36 - MORELL F. et coll.
Hereditary coproporphyria.
Rev. Clin. Esp. (1975) 139 n° 4, 357-361.
- 37- MUSTAJOKI et KOSKELO
Hereditary hepatic porphyrias in Finland.
Acta Med. Scand. (1976) 200, 171-178.
- 38 - NICHOLAS R.-B.H. et RIMINGTON C.
Qualitative analysis of the porphyrins by partition chromatography.
Scand. Journ. Clin. Lab. Invest. (1949) 1, 12.
- 39 - NICHOLAS RBH
Chromatographic methods for the separation and identification of porphyrias.
Biochem. Journ. (1951) 48, 309- 313.
- 40 - NORDMANN, PERROT, GAJDOS ...
Les porphyries.
La Revue de Médecine (1977) , n° 20, 971-1023
n° 21,22 , 1028-1046.
- 41 - PERROT H.
La porphyrie cutanée dite tardive.
Thèse LYON 1968.
- 42 - PERROT H., THIVOLET J.
La porphyrie cutanée tardive.
C.M.L. (1974 50, n° 38-39, 2889-2904.
- 43 - PERROT, THIVOLET , BOUCHERAT, GERVEZ
La porphyria variegata (4 cas).
Lyon Médical (1976) 235, 11, 905-915.
- 44 - PINOL-AGUADE, HERRERO et coll.
Thin-layer chromatography and counter-current analysis in porphyrias.
British Journ. of Derm. (1975) 93, 277.
- 45 - RIMINGTON C., LOCKWOOD N. et BELCHER
The excretion of porphyrin-peptide conjugates in porphyria variegata.
Clin. Sci. (1968) 35, 211-247.
- 46 - ROMAN et coll.
Forms of porphyrins excreted in various types of hepatic porphyria.
Folia Biochem. et Biol. Graeca. (1969) vol. VI, fasc. 2.

- 47 - SCHWARTZ S., BERG M.H., DOSSENMAIER L. et DINSMORE H.
Determination of porphyrins in biological material.
in Glick D., Edit. 1960, Method of biochemical analysis, vol. VIII,
page 221.
- 48 - SMITH S.G.
The use of T. L. C. in the separation of free porphyrins and porphyrin
methyl esters.
Brit. J. Dermat. (1975) 93, 291.
- 49 - SMITH, BELCHER
Bile and faecal porphyrins in the quiescent phase of variegate porphyria.
Bioch. J. (1968) 110, n° 2.
- 50 - TSCHUDY D.P.
Biochemical lesions in porphyrias.
J.A.M.A. (1965) 191, 718-730.
- 51 - WETTERBERG, HAEGER-ARONSEN
Faecal porphyrins as a diagnostic index between acute intermittent
porphyria and porphyria variegata.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. (1968) 22, n° 2, 131-136.
- 52 - WITH T.K.
Hereditary hepatic porphyrias.
Acta Med. Scand. (1969) 186, 117-124.

ABREVIATIONS UTILISEES

P. C. T. Porphyrie Cutanée Tardive
 P. V. }
 P. variegata } Porphyrie Variegata
 P. A. I. Porphyrie aiguë intermittente
 p porphyrines
 protop. érythropoïétique : protoporphyrine érythropoïétique.

P₈ }
 Urop. } uroporphyrine

P₇ }
 P. heptacarboxylée } porphyrines à 7 carboxyles

P₆ }
 P. hexacarboxylée } porphyrines à 6 carboxyles

P₅ }
 P. pentacarboxylée } porphyrines à 5 carboxyles

P₄ }
 ou coprop. } coproporphyrine

P₂ }
 ou protop. } protoporphyrine

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>REVUE SCHEMATIQUE DE LA LITTERATURE</u>	3
<u>I - METHODES</u>	4
<u>A) Dosages des porphyrines fécales</u>	4
1 - Technique de Holti et Rimington	4
2 - Technique de Schwartz, Berg, Dossenmaier et Dinsmore	4
3 - Technique de Rimington et Lockwood	5
<u>B - Méthodes chromatographiques d'identification des porphyrines</u>	5
1 - Porphyrines estérifiées	5
a - Préparation des esters des porphyrines fécales	5
b - Chromatographie sur papier	5
c - Chromatographie sur couche mince	6
2 - Porphyrines libres	7
a - Extraction des p. libres fécales	7
b - Chromatographie sur papier	7
c - Chromatographie sur couche mince	7
<u>II - RESULTATS</u>	8
<u>A) Porphyrie cutanée tardive</u>	8
1 - Etude quantitative	8
2 - Etude qualitative	8
<u>B) Porphyrie variegata</u>	10
1 - Etude quantitative	10
2 - Etude qualitative	10
3 - La porphyrine "X" fécale	11
<u>C) Coproporphyrie héréditaire</u>	12
<u>D) Porphyrie aiguë intermittente</u>	13
<u>E) Protoporphyrie érythropoïétique</u>	14
<u>F) Porphyrie érythropoïétique congénitale de Günther</u>	14
<u>TRAVAUX PERSONNELS</u>	15
<u>I - PRESENTATION DES TECHNIQUES ET DES MALADES ETUDIES</u>	16
<u>A) La technique utilisée</u>	16
1 - Dosage chromatographique des porphyrines fécales	16
2 - Etude de sujets témoins	18
<u>B) Présentation des malades étudiés</u>	18
1 - Porphyrines hépatiques	18
2 - Porphyrie érythropoïétiques	21

	<u>Pages</u>
II - RESULTATS ET COMMENTAIRES	21
A) <u>Etude quantitative</u>	21
1 - P. C. T.	23
2 - Porphyries mixtes	24
3 - Porphyrie aiguë intermittente	25
4 - Protoporphyririe érythropoïétique	25
B) <u>Etude qualitative</u>	26
1 - P. C. T.	28
a) En moyenne	28
b) Variations	28
2 - P. mixtes	30
a) Porphyries Variegata	30
b) Coproporphyrries héréditaires	36
3 - Protoporphyririe érythropoïétique	39
4 - P. A. I.	40
C) <u>Commentaires</u>	40
1 - Intérêt de la chromatographie des porphyrines fécales pour le diagnostic des porphyries : diagnostic différentiel	40
a) P. C. T. - P. V.	40
b) P. V. - Coprop. héréditaire	41
c) P. A. I. - P. mixtes	41
d) Les déficits enzymatiques	41
2 - Diagnostic positif	43
a) P. C. T.	43
b) P. mixtes	44
c) P. aiguës intermittentes	46
d) Protop. érythropoïétiques	47
 <u>CONCLUSIONS</u>	 48
 <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	 50
 <u>TABLE DES MATIERES</u>	 57

